

Institut national de la recherche scientifique
Date: 95-12-20

Cheminement de Martin Milot

Programme

Code: 3705
Nom: Maîtrise en sciences expérimentales de la santé
Nombre de crédits réussis: 47,0
Session d'admission: HIVER 93

Mémoire

Titre: Galanines plasmatique et pancréatique à l'exercice
Date dépôt: 950830 Date soutenance: 000000

Directeur

Nom: Raynald Gareau
Institution: INRS-Santé

Co-directeur

Nom: François Trudeau
Institution: INRS-Santé

Premier examinateur interne

Nom: Guy R. Brisson
Institution: INRS-Santé

Second examinateur interne

Nom:
Institution:

Premier examinateur externe

Nom: Jean-Marc Lavoie
Institution: Université de Montréal

Second examinateur externe

Nom:
Institution:

Troisième examinateur externe

Nom:
Institution:

RÉSUMÉ

Il est démontré que l'exercice physique d'une intensité suffisamment élevée provoque une diminution de la concentration d'insuline circulante. La diminution de la sécrétion d'insuline semble être principalement provoquée par la libération locale de noradrénaline par les terminaisons nerveuses sympathiques situées dans les îlots de Langerhans. La galanine, neuropeptide relâché dans le pancréas, pourrait aussi potentiellement jouer un rôle dans l'inhibition de la sécrétion de l'insuline à l'exercice. Au repos, l'infusion intraveineuse de galanine atténue la sécrétion d'insuline provoquée par une infusion de glucose chez le chien éveillé. De même, la stimulation électrique du nerf pancréatique chez le chien anesthésié produit une augmentation de la concentration plasmatique de galanine et de noradrénaline parallèlement à une inhibition partielle de la sécrétion d'insuline. Ces résultats rapportés dans la littérature suggèrent une implication possible de la galanine dans le contrôle de l'insulinémie à l'exercice. Le but de cette étude est donc de déterminer si une augmentation de la concentration de galanine en circulation pourrait survenir suite à l'activation du système nerveux sympathique provoquée par l'activité physique.

Deux études ont été réalisées chez l'humain pour évaluer la concentration plasmatique de galanine à l'exercice. Nous avons étudié le problème à l'exercice sous-maximal (60 minutes à 58% du $\dot{V}O_2$ max) de même que lors d'un exercice progressif maximal menant au $\dot{V}O_2$ max, efforts suffisants pour provoquer une activation du système nerveux sympathique. Les concentrations plasmatiques

d'adrénaline et de noradrénaline ont augmenté ($p < 0,05$) pour les deux protocoles sans toutefois que la concentration plasmatique de galanine ne varie de façon significative. Suite à ces observations, nous avons émis l'hypothèse que le foie pouvait extraire de la circulation, la galanine sécrétée avant qu'elle n'atteigne la périphérie. Pour le vérifier, il nous fallait donc effectuer des prélèvements plus près du site de libération soit, le pancréas.

Une troisième étude fut donc réalisée en utilisant le rat, permettant les prélèvements du tissu pancréatique, du sang veineux portal (VP) et du sang de la veine cave (VC). Le protocole d'exercice utilisé consistait en une épreuve de nage de 30 minutes avec surcharge de 5 % du poids corporel. Les animaux étaient aléatoirement séparés en 2 groupes selon l'injection pré-exercice. Le premier groupe recevait une injection intraveineuse (i.v.) de soluté physiologique. L'autre recevait une injection i.v. d'une solution de D-glucose (0,7g/kg) de façon à provoquer une hyperglycémie et à stimuler l'ensemble du système de régulation de la glycémie. Pour le groupe ayant reçu le glucose, une partie des animaux étaient à jeun 12 à 15 heures avant l'expérimentation alors que l'autre partie des animaux étaient nourris sans restriction. Tous les groupes étaient ensuite séparés en sous-groupes soit, exercice et repos.

Des résultats significatifs ont été obtenus pour les rats en condition d'hyperglycémie et qui avaient été nourris. Après 30 minutes d'exercice, ces rats montraient une concentration plasmatique en noradrénaline significativement plus élevée ($p < 0,05$) et une concentration plasmatique en galanine presque 2 fois plus élevée ($p < 0,05$) que les rats étudiés au repos. De plus, le contenu

pancréatique en galanine était aussi significativement plus élevé ($p < 0,05$) pour ces rats après l'exercice.

Nous observons donc, chez l'humain, une absence de variation de la galanine plasmatique à l'exercice pour des prélèvements effectués en périphérie et ce, en dépit d'une activation significative du système nerveux sympathique. Par contre, les résultats chez le rat en condition hyperglycémique suggèrent une libération de galanine dans le plasma suite à un exercice de 30 minutes, suffisamment intense pour activer le système nerveux sympathique. Cette augmentation est parallèle à celle de la concentration plasmatique de noradrénaline et de glucose et à la diminution de la concentration plasmatique d'insuline. De plus, le contenu pancréatique en galanine est augmenté suite à l'exercice, suggérant une néosynthèse de galanine associée à l'exercice.

Ces résultats ouvrent la porte à des études sur les états hyperglycémiques, notamment chez les diabétiques de type II, pathologie fortement liée à l'obésité. Des études additionnelles sur la galanine pourraient venir ajouter des éléments physiologiques à la compréhension de la pathologie et pourraient fournir des arguments à la prescription de l'activité physique comme faisant partie de la thérapeutique à utiliser.

Université du Québec
INRS-Santé

Galanines plasmatique et pancréatique à l'exercice.

Par
Martin Milot

Mémoire présenté en réponse partielle à l'obtention
du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en
Sciences Expérimentales de la Santé

décembre 1995

© droits réservés de Martin Milot, 1995



RÉSUMÉ

Il est démontré que l'exercice physique d'une intensité suffisamment élevée provoque une diminution de la concentration d'insuline circulante. La diminution de la sécrétion d'insuline semble être principalement provoquée par la libération locale de noradrénaline par les terminaisons nerveuses sympathiques situées dans les îlots de Langerhans. La galanine, neuropeptide relâché dans le pancréas, pourrait aussi potentiellement jouer un rôle dans l'inhibition de la sécrétion de l'insuline à l'exercice. Au repos, l'infusion intraveineuse de galanine atténue la sécrétion d'insuline provoquée par une infusion de glucose chez le chien éveillé. De même, la stimulation électrique du nerf pancréatique chez le chien anesthésié produit une augmentation de la concentration plasmatique de galanine et de noradrénaline parallèlement à une inhibition partielle de la sécrétion d'insuline. Ces résultats rapportés dans la littérature suggèrent une implication possible de la galanine dans le contrôle de l'insulinémie à l'exercice. Le but de cette étude est donc de déterminer si une augmentation de la concentration de galanine en circulation pourrait survenir suite à l'activation du système nerveux sympathique provoquée par l'activité physique.

Deux études ont été réalisées chez l'humain pour évaluer la concentration plasmatique de galanine à l'exercice. Nous avons étudié le problème à l'exercice sous-maximal (60 minutes à 58% du $\dot{V}O_2$ max) de même que lors d'un exercice progressif maximal menant au $\dot{V}O_2$ max, efforts suffisants pour provoquer une activation du système nerveux sympathique. Les concentrations plasmatiques

d'adrénaline et de noradrénaline ont augmenté ($p<0,05$) pour les deux protocoles sans toutefois que la concentration plasmatique de galanine ne varie de façon significative. Suite à ces observations, nous avons émis l'hypothèse que le foie pouvait extraire de la circulation, la galanine sécrétée avant qu'elle n'atteigne la périphérie. Pour le vérifier, il nous fallait donc effectuer des prélèvements plus près du site de libération soit, le pancréas.

Une troisième étude fut donc réalisée en utilisant le rat, permettant les prélèvements du tissu pancréatique, du sang veineux portal (VP) et du sang de la veine cave (VC). Le protocole d'exercice utilisé consistait en une épreuve de nage de 30 minutes avec surcharge de 5 % du poids corporel. Les animaux étaient aléatoirement séparés en 2 groupes selon l'injection pré-exercice. Le premier groupe recevait une injection intraveineuse (i.v.) de soluté physiologique. L'autre recevait une injection i.v. d'une solution de D-glucose (0,7g/kg) de façon à provoquer une hyperglycémie et à stimuler l'ensemble du système de régulation de la glycémie. Pour le groupe ayant reçu le glucose, une partie des animaux étaient à jeun 12 à 15 heures avant l'expérimentation alors que l'autre partie des animaux étaient nourris sans restriction. Tous les groupes étaient ensuite séparés en sous-groupes soit, exercice et repos.

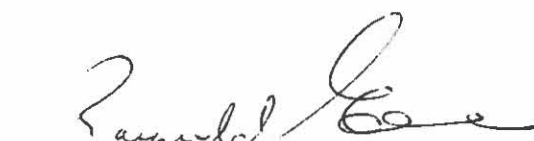
Des résultats significatifs ont été obtenus pour les rats en condition d'hyperglycémie et qui avaient été nourris. Après 30 minutes d'exercice, ces rats montraient une concentration plasmatique en noradrénaline significativement plus élevée ($p<0,05$) et une concentration plasmatique en galanine presque 2 fois plus élevée ($p<0,05$) que les rats étudiés au repos. De plus, le contenu

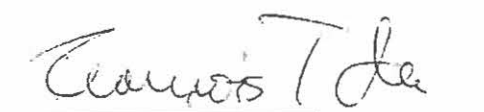
pancréatique en galanine était aussi significativement plus élevé ($p < 0,05$) pour ces rats après l'exercice.

Nous observons donc, chez l'humain, une absence de variation de la galanine plasmatique à l'exercice pour des prélèvements effectués en périphérie et ce, en dépit d'une activation significative du système nerveux sympathique. Par contre, les résultats chez le rat en condition hyperglycémique suggèrent une libération de galanine dans le plasma suite à un exercice de 30 minutes, suffisamment intense pour activer le système nerveux sympathique. Cette augmentation est parallèle à celle de la concentration plasmatique de noradrénaline et de glucose et à la diminution de la concentration plasmatique d'insuline. De plus, le contenu pancréatique en galanine est augmenté suite à l'exercice, suggérant une néosynthèse de galanine associée à l'exercice.

Ces résultats ouvrent la porte à des études sur les états hyperglycémiques, notamment chez les diabétiques de type II, pathologie fortement liée à l'obésité. Des études additionnelles sur la galanine pourraient venir ajouter des éléments physiologiques à la compréhension de la pathologie et pourraient fournir des arguments à la prescription de l'activité physique comme faisant partie de la thérapeutique à utiliser.


Martin Milot, étudiant


Raynald Garéau, directeur


François Trudeau, co-directeur

REMERCIEMENTS

Je remercie infiniment,

Le Dr François Trudeau pour l'élaboration et la mise au point de ce projet de recherche, pour sa supervision, sa confiance et sa grande disponibilité. Son dynamisme et sa grande compétence m'ont permis d'acquérir une formation au-delà de mes aspirations.

Tout aussi sincèrement, le Dr Raynald Gareau, grâce à qui j'ai pu profiter de la collaboration INRS - UQTR et obtenir un enseignement sur mesure.

Ma compagne de vie, Marie-Claude ainsi que mes parents qui m'ont sans cesse encouragé tout au long de ce projet.

La Dr Carole Lavoie qui m'a fait confiance et m'a permis d'élargir mon expertise en me faisant participer à différents projets de recherche et d'enseignement.

Les étudiants Sylvain Nadeau, Michel Paré et Kevin Plourde ainsi que les sujets et les infirmières pour la réalisation et la participation aux expérimentations chez l'humain.

L'UQTR où j'ai fait l'ensemble de mes expérimentations ainsi que Mme Rollande Caron et M. Claude Brouillette qui ont été d'une aide précieuse et d'un professionnalisme remarquable.

Finalement, je ne pourrais passer sous silence la contribution exceptionnelle de M. Louis Diamond qui, en m'employant tout au long de mes études, a aussi collaboré grandement à l'accomplissement de ma maîtrise.

Une partie de ce projet de recherche a été supportée par le FCAR sous forme de bourse d'excellence.

TABLE DES MATIÈRES

	page
Résumé.....	iii
Remerciements.....	vii
Index des tableaux et des figures.....	xi
Chapitre 1 - Revue de la littérature.....	13
• Insuline.....	13
• Glucagon.....	14
• Catécholamines.....	16
• Sécrétion d'insuline à l'exercice	17
• Qu'est-ce que la galanine?.....	19
• Galanine et récepteurs.....	25
• Effets physiologiques de la galanine pancréatique	25
- Effets sur la sécrétion d'insuline.....	26
- Effets sur la sécrétion de glucagon.....	27
• Problème posé, hypothèses/objectifs	27
Chapitre 2 - Approche expérimentale	29
• Exercice physique et sécrétion de galanine.....	29
- Galanine et exercice chez l'humain.....	29
a) Exercice sous-maximal de 60 minutes	29
b) Exercice progressif maximal ($\dot{V}O_2$ max)	31
- Galanine et exercice chez le rat.....	33
• Analyses biochimiques.....	35
- Catécholamines plasmatiques.....	35
- Glucose plasmatique.....	36
- Insuline plasmatique	37
- Galanine plasmatique.....	37
- Galanine tissulaire	38

- Protéines tissulaires	38
• Analyses statistiques.....	39
Chapitre 3 - Résultats.....	41
• Galanine et exercice chez l'humain.....	41
- Exercice sous-maximal de 60 minutes.....	41
- Exercice progressif maximal ($\dot{V}O_2$ max).....	48
• Galanine et exercice chez le rat.....	55
Chapitre 4 - Discussion.....	63
• Galanine et exercice chez l'humain.....	63
- Exercice sous-maximal de 60 minutes.....	63
- Exercice progressif maximal ($\dot{V}O_2$ max).....	65
• Galanine et exercice chez le rat.....	67
Chapitre 5 - Conclusion.....	73
Références	75
Annexes	
A Formulaires de consentement, protocole sous-max. de 60 minutes et $\dot{V}O_2$ max	83
B Formulaire Q-AAP révisé.....	89
C Protocole utilisé pour le $\dot{V}O_2$ max	93
D Exemples d'analyses statistiques.....	97

INDEX DES TABLEAUX ET DES FIGURES

Tableau 1	Caractéristiques physiques des sujets humains.....	30
Tableau 2	Protocole de détermination du $\dot{V}O_2$ max	95

Figure 1	Mécanismes de la sécrétion de l'insuline.....	15
Figure 2	Séquence en acides aminés de la galanine.....	21
Figure 3	Mécanismes proposés de la synthèse de la galanine	21
Figure 4	La galanine comme neurotransmetteur sympathique	23
Figure 5	Cosécrétion de la galanine et de la noradrénaline	24
Figure 6	Conversion de l'adrénaline et de la noradrénaline pour le dosage des catécholamines	36
Figure 7	Compétition insuline-anticorps pour le dosage de l'insuline	37
Figure 8	Fréquences cardiaques à l'exercice de 60 minutes.....	42
Figure 9	Catécholamines plasmatiques à l'exercice de 60 minutes	43
Figure 10	Galanine plasmatique à l'exercice de 60 minutes	45
Figure 11	Glucose plasmatique à l'exercice de 60 minutes.....	46
Figure 12	Insuline plasmatique à l'exercice de 60 minutes.....	47
Figure 13	Fréquences cardiaques à l'exercice progressif.....	49
Figure 14	Catécholamines plasmatiques à l'exercice progressif.....	50
Figure 15	Galanine plasmatique à l'exercice progressif.....	52

Figure 16 Glucose plasmatique à l'exercice progressif	53
Figure 17 Insuline plasmatique à l'exercice progressif.....	54
Figure 18 Noradrénaline plasmatique post-exercice chez le rat.....	57
Figure 19 Galanine plasmatique post-exercice chez le rat.....	58
Figure 20 Galanine pancréatique post-exercice chez le rat.....	59
Figure 21 Glucose plasmatique post-exercice chez le rat	60
Figure 22 Insuline plasmatique post-exercice chez le rat	61

CHAPITRE 1

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Le maintien d'une glycémie normale chez l'homme (de 4,5 à 5,5 mM) est d'une importance primordiale. Le glucose est le substrat énergétique préférentiel du système nerveux central qui ne peut synthétiser ou emmagasiner une quantité suffisante de glucose pour ses fonctions cellulaires normales (Guyton, 1986; Sutter, 1982; Yamaguchi, 1992). Le maintien de la glycémie constitue le rôle essentiel des cellules du pancréas endocrine, sécrétant principalement l'insuline et le glucagon. Ces hormones maintiennent l'homéostasie du glucose en contrôlant ses entrées et sorties dans le milieu intérieur. En condition physiologique particulière telle l'activité physique, ces hormones sont à leur tour soumises à une régulation de leur sécrétion. Outre la régulation apportée par la glycémie elle-même, les catécholamines (adrénaline et noradrénaline) modulent la sécrétion des hormones pancréatiques de façon à permettre le maintien de la glycémie qui autrement chuterait à l'effort en raison de l'utilisation d'énergie par les muscles via la glycolyse.

Insuline

L'insuline est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans lorsque la glycémie augmente. Elle favorise le transport transmembranaire du glucose vers l'intérieur des cellules au niveau de la plupart des tissus de l'organisme et stimule la glycogénèse (production de glycogène, forme d'entreposage du glucose qui survient principalement dans le foie et le muscle squelettique). Ceci a comme

conséquence de rétablir la glycémie (Granner, 1989; Guyton 1986). En effet, la régulation de la sécrétion d'insuline est le plus important processus de contrôle de la concentration de glucose dans le sang (Yamaguchi, 1992). Parmi les facteurs participant à cette régulation au repos, les nutriments jouent un rôle essentiel et, plus spécialement, le glucose sanguin lui-même (Petersen, 1990; Portha, 1991; Sutter, 1982). Une augmentation de la glycémie stimule donc la sécrétion d'insuline. L'insuline provoque alors l'entrée du glucose dans les cellules, ce qui abaisse la glycémie et réduit la stimulation du pancréas à sécréter l'insuline (McArdle, Katch et Katch, 1991). Les étapes conduisant à la libération de l'insuline sous l'influence de l'augmentation de la glycémie sont résumées à la figure 1. Le mécanisme repose sur l'augmentation de la concentration cytoplasmique de calcium libre des cellules β . Cette augmentation du calcium libre dans le cytoplasme permet aux protéines contractiles du squelette cellulaire d'effectuer le transport des vésicules contenant les granules de sécrétion (insuline) vers la membrane cellulaire et leur exocytose, libérant ainsi l'insuline dans le milieu extra-cellulaire (Sutter, 1982). La libération d'insuline entraîne aussi la libération du peptide-C en quantité équimoléculaire, résultat d'une série de clivages peptidiques sur la proinsuline, molécule précurseur de l'insuline (Granner, 1989).

Glucagon

Les variations de la glycémie ont, sur la sécrétion du glucagon, des effets exactement opposés à ceux qu'elles ont sur la sécrétion d'insuline. Une baisse de la glycémie aux environs de 4 mM entraînera une augmentation de la sécrétion du glucagon, parallèlement à une baisse de la sécrétion d'insuline. Ces

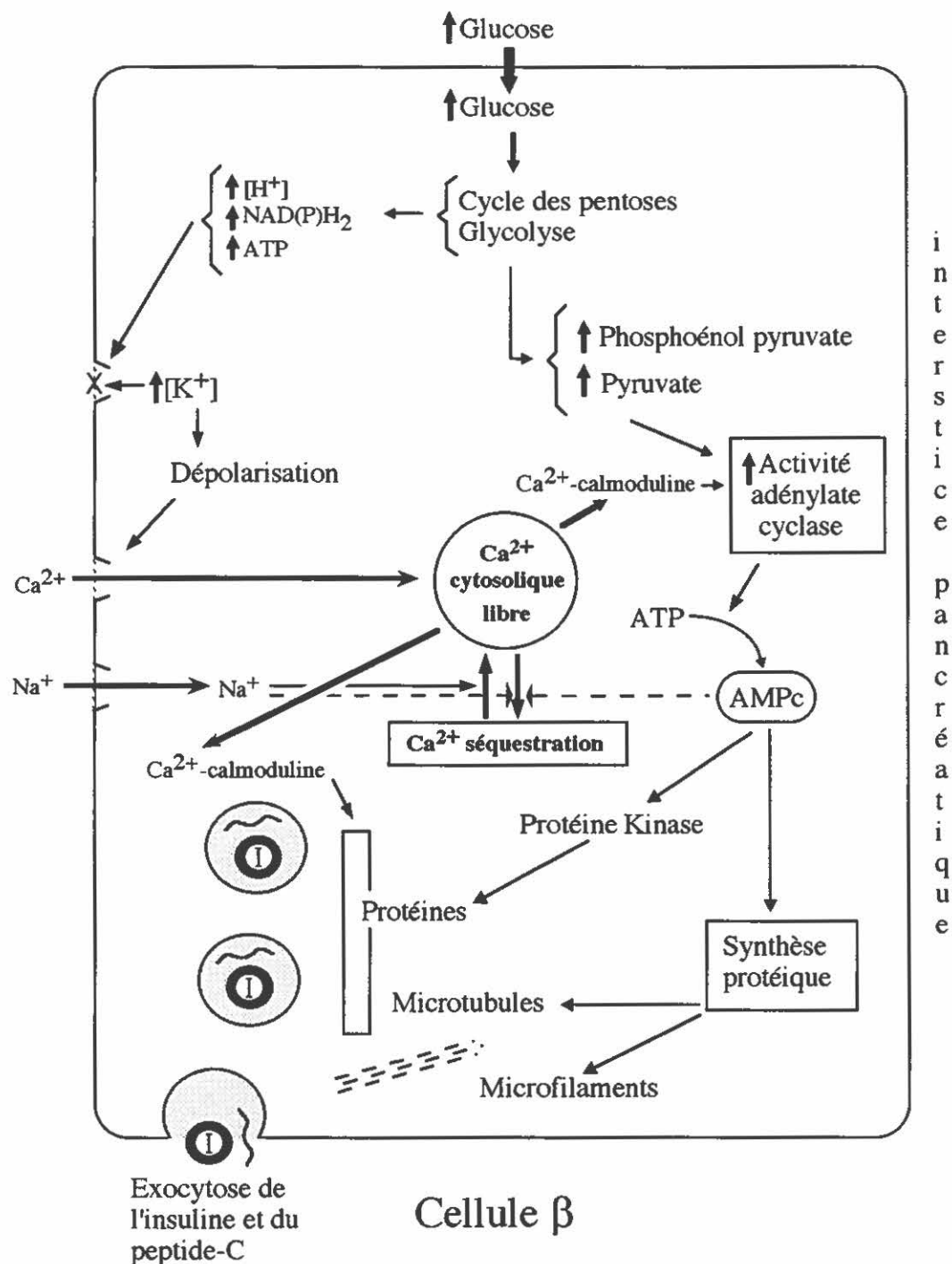


Figure 1: Effets d'une augmentation de la glycémie sur la sécrétion des cellules β des îlots de Langerhans. Différents mécanismes menant à l'augmentation du calcium intracellulaire y sont démontrés. (---> inhibition; → stimulation) (Tiré de Sutter, 1982).

mécanismes sont donc réglés par la concentration de glucose plasmatique et par différents facteurs hormonaux et nerveux (Granner, 1989; Yamaguchi, 1992).

Lorsqu'une baisse de la concentration de glucose plasmatique survient, le glucagon (à l'inverse de l'insuline) sera sécrété, évitant l'hypoglycémie. Le glucagon est sécrété par les cellules α des îlots de Langerhans et stimule la production hépatique de glucose en activant la glycogénolyse et la néoglucogenèse (Guyton, 1986; Sutter, 1982). L'activation de la glycogénolyse hépatique est l'effet le plus marquant de l'action du glucagon. Elle est le résultat d'une cascade d'événements qui mène à la dégradation du glycogène en glucose-1-phosphate puis en glucose libre, suite à une déphosphorylation. Cette cascade constitue un puissant processus d'amplification, expliquant le fait qu'une faible quantité de glucagon (aussi peu que 1 $\mu\text{g/kg}$), administrée en bolus, puisse entraîner une hyperglycémie (Granner, 1989; Guyton, 1986).

Même après l'appauvrissement complet du glycogène hépatique, le maintien de la perfusion en glucagon continue de provoquer une hyperglycémie. Ceci résulte de l'activation de la néoglucogenèse hépatique. Ce processus n'est, en fait, que la production de glucose à l'aide d'autres substrats que le glycogène, originant soit de la protéolyse (ex. alanine), de la lipolyse (ex. glycérol) ou de la glycolyse anaérobie (ex. lactate) (Guyton, 1986).

Catécholamines

En plus de la glycémie, plusieurs autres mécanismes importants viennent régler la sécrétion de l'insuline et du glucagon. Il est démontré que les composantes parasympathique et sympathique du système nerveux autonome

peuvent influencer la libération de ces hormones (Miller, 1981; Yamaguchi, 1992). Ces mécanismes sont principalement impliqués lors de situations particulières. Notamment, la stimulation du système sympathique sera associée à des conditions comme l'hypoglycémie, le stress ou l'activité physique (Kuchel, 1991; McArdle, Katch et Katch, 1991; Yamaguchi, 1992). Lors de l'exercice physique, la concentration plasmatique de noradrénaline augmente avec l'intensité de l'effort alors que la concentration plasmatique d'adrénaline est augmentée par des activités intenses ou prolongées (Kinderman et al. 1982; Terjung, 1979).

Sécrétion d'insuline à l'exercice

La concentration plasmatique d'insuline diminue à l'exercice physique d'une intensité supérieure à environ 50 % de la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_2 \text{ max}$) (Galbo, 1983). Cette diminution est proportionnelle à l'intensité (Bloom et al., 1976; Galbo, 1983) et la durée (Ahlborg et Felig, 1982) de l'effort. Cependant, lors d'un exercice court mais intense, il est possible d'observer une baisse de la sécrétion d'insuline (Marliss et al. 1991). La baisse parallèle de la concentration plasmatique du peptide C suggère que c'est une baisse de sécrétion de l'insuline qui cause la diminution de sa concentration plasmatique à l'exercice et non une augmentation de son taux d'épuration (Krzentowski et al., 1981; Levitt et al., 1993; Wirth et al., 1981).

La baisse de la concentration d'insuline à l'exercice, parallèlement à l'augmentation de la sécrétion du glucagon, est d'une importance fonctionnelle, permettant la production hépatique de glucose pour contrebalancer son utilisation par le muscle et ainsi, le maintien d'une normoglycémie (Galbo, 1983).

La diminution de la sécrétion d'insuline semble être principalement provoquée par la libération locale de noradrénaline par les terminaisons nerveuses sympathiques situées dans les îlots de Langerhans (Dunning et Taborsky, 1991; Järhult et Holst, 1979; Kurose et al., 1990; Miller, 1981; Yamaguchi, 1992). À l'exercice, l'action inhibitrice de la noradrénaline sur la sécrétion d'insuline se ferait par l'intermédiaire de la stimulation des récepteurs α -adrénergiques, situés sur les cellules β des îlots de Langerhans, puisque le blocage de ces récepteurs avec la phentolamine atténue la diminution de la sécrétion d'insuline (Brisson, Malaisse-Lagae et Malaisse, 1971; Dunning et Taborsky, 1991; Galbo, Christensen et Holst, 1977; Järhult et Holst, 1979; Kurose et al., 1990; Miller, 1981; Yamaguchi, 1992).

Par contre, sur des pancréas perfusés de rats, le blocage adrénergique n'antagonise pas complètement l'inhibition de la sécrétion de l'insuline et de la somatostatine (Ahrén et al. 1991). De plus, chez le chien au repos, une infusion locale de noradrénaline ne provoque pas de baisse de la sécrétion d'insuline comparable à celle obtenue par la stimulation nerveuse sympathique (Ahrén et al. 1991; Yamaguchi, 1992). À l'exercice prolongé, la concentration d'insuline diminue toujours de 15 à 40 % selon les études, malgré le blocage des récepteurs α -adrénergiques par la phentolamine (Brisson, Malaisse-Lagae et Malaisse, 1971; Galbo, Christensen et Holst, 1977; Järhult et Holst, 1979). De plus, le blocage adrénergique n'affecte pas l'inhibition de la sécrétion d'insuline ou l'augmentation de la sécrétion de glucagon suite à une activation sympathique (Dunning et Taborsky, 1989). Une baisse de la concentration plasmatique d'insuline a même été mesurée chez des sujets humains surrénalectomisés lors

d'un exercice sur ergocycle menant à l'épuisement (Järhult et Holst, 1979). Ces études suggèrent donc que des mécanismes non-adrénergiques participent aussi au contrôle de la sécrétion d'insuline lors de l'activation nerveuse sympathique.

Il est permis de croire que la galanine, un peptide relâché dans le pancréas, puisse potentiellement jouer un rôle dans l'inhibition de la sécrétion d'insuline à l'exercice. D'une part, l'infusion intraveineuse de galanine atténue la sécrétion d'insuline provoquée par une infusion de glucose chez le chien éveillé (McDonald et al., 1985); d'autre part, la stimulation du nerf pancréatique mixte chez le chien anesthésié produit une augmentation de la concentration plasmatique de galanine parallèlement à une inhibition partielle de la sécrétion d'insuline avec (Dunning et Taborsky, 1988) ou sans (Dunning et Taborsky, 1989) blocage des récepteurs α et β -adrénergiques. Chez le rat, l'inhibition de la sécrétion d'insuline par la galanine est décrite dans plusieurs études (Ahrén et Lindskog, 1992; Lindskog et al. 1990; Miralles et al. 1990; Schnuerer et al. 1987). Des auteurs présentent donc la galanine comme faisant partie des mécanismes non-adrénergiques proposés comme complément du système nerveux sympathique impliqué dans la baisse de la sécrétion d'insuline (Kurose et al. 1990; Yamaguchi, 1992). Cependant, la libération et le rôle de la galanine n'ont pas été étudiés à l'exercice.

Qu'est-ce que la galanine?

On attribue la découverte de la galanine à un groupe de chercheurs suédois qui, en 1983, rapporte avoir isolé un nouveau peptide provenant d'extraits d'intestin de porc et possédant des activités biologiques intéressantes.

En effet, la galanine provoque une contraction des muscles lisses chez le rat et entraîne une hyperglycémie chez le chien (Tatemoto et al., 1983). Détectée par son amide C-terminal, la galanine porcine consiste en un peptide de 29 acides aminés, dont la séquence est illustrée à la figure 2. On peut donc voir que la galanine tire son nom de la structure porcine, débutant par la Glycine au bout N-terminal (N-term.) et se terminant par l'Alanine en C-terminal (C-term.).

La structure de la galanine varie d'une espèce à l'autre, habituellement dans la partie C-terminale de la chaîne (Ahrén et Lindskog, 1992), ce qui pourrait expliquer les différences dans les effets inter-espèces. Les 15 acides aminés N-term. se sont avérés identiques pour toutes les espèces étudiées (Ahrén et Lindskog, 1992). Chez l'humain, la structure a récemment été découverte et comporte 30 a.a. dont le bout C-term n'est pas lié à un amide (Figure 2) (Ahrén et Lindskog, 1992; Bersani et al., 1991; Evans et Shine, 1991; Holst et al., 1993; McKnight et al., 1992).

Telle qu'illustrée à la figure 3, la synthèse de la galanine s'apparente à celle d'autres peptides connus et libère des sous-produits, le « pre-galanin message peptide » (PGMP) et le « galanin message associated peptide » (GMAP) dont les fonctions ne sont pas encore connues (Ahrén et Lindskog, 1992; Bartfai, Fisone et Langel, 1992; Rökaeus, 1987). Par contre, ces sous-produits se retrouvent chez différentes espèces ce qui porte à croire qu'ils posséderaient effectivement une fonction biologique propre (Dunning et Taborsky, 1988; Evans et Shine, 1991).

1	5	10	15
A- Gly-Trp-Thr-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr-Leu-Leu-Gly-Pro-His-Ala-			
B- Gly-Trp-Thr-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr-Leu-Leu-Gly-Pro-His-Ala-			
C- Gly-Trp-Thr-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr-Leu-Leu-Gly-Pro-His-Ala-			
16	20	25	30
Ile-Asp-Asn-His-Arg-Ser-Phe-His-Asp-Lys-Tyr-Gly-Leu- Ala -NH ₂			
Ile-Asp-Asn-His-Arg-Ser-Phe- <u>Ser</u> -Asp-Lys- <u>His</u> -Gly-Leu- <u>Thr</u> -NH ₂			
<u>Val</u> - <u>Gly</u> -Asn-His-Arg-Ser-Phe- <u>Ser</u> -Asp-Lys- <u>Asn</u> -Gly-Leu- <u>Thr</u> - <u>Ser</u>			

Figure 2: Séquence en acides aminés de la galanine A- porcine, B- de rat et C- humaine. (Les acides aminés soulignés sont différents de la séquence porcine; no. 1=N-term.).

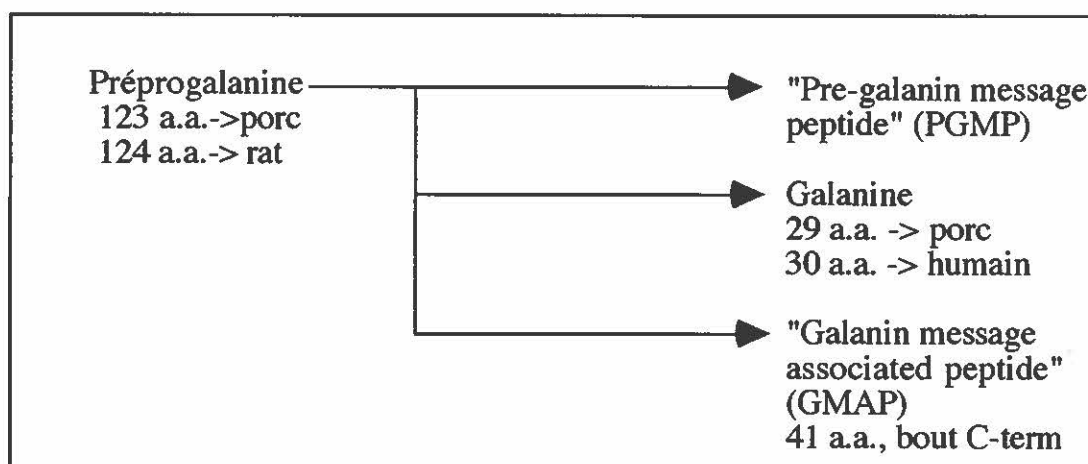
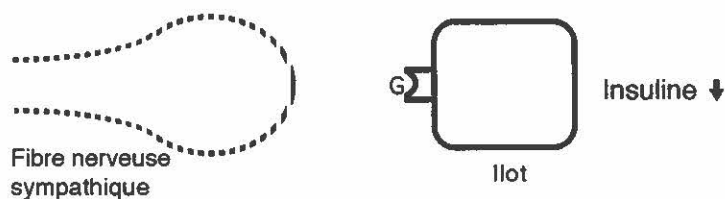


Figure 3: Mécanisme proposé de la synthèse de la galanine et de ses sous-produits et différences structurales entre certaines espèces.

Le système gastro-intestinal semble particulièrement riche en galanine (Ekblad et al, 1985; Owyang et Louie, 1989). La galanine du système gastro-intestinal est associée à des nerfs sympathiques. Dans le pancréas, une immunoréactivité galaninergique fut mise en évidence dans des extraits de pancréas humain, canin et porcin (McDonald et al., 1992). Par immunofluorescence, la présence de la galanine fut observée chez l'humain dans les nerfs pancréatiques principalement en association avec les îlots de Langerhans, les tubules et les vaisseaux sanguins (Dunning et al., 1986; McDonald et al., 1992, Shimosegawa et al. 1992). La présence de galanine a aussi été démontrée chez le rat et la souris dans des nerfs intrapancréatiques adrénergiques (Lindskog et al., 1991) et particulièrement en association avec les îlots (Dunning et Taborsky, 1986). Chez le chien, les fibres nerveuses contenant de la galanine sont post-ganglioniques extrinsèques et sympathiques (Åhrén et Lindskog, 1992).

Différents critères ont été définis par Dunning et Taborsky (1988) pour confirmer le rôle de la galanine comme neurotransmetteur sympathique (Figure 4). La galanine satisfait ces critères et peut donc être considérée comme neurotransmetteur sympathique, inhibiteur potentiel des cellules β (Dunning et Taborsky, 1988). D'autres études suggèrent même que la galanine serait cosécrétée avec la noradrénaline des mêmes terminaisons nerveuses mais originerait de vésicules différentes (Åhrén et al. 1990) (Figure 5).

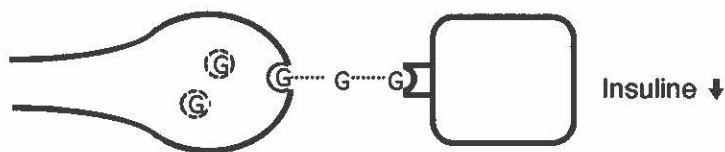
La galanine s'avère aussi très bien répartie dans le système nerveux chez les mammifères. On en retrouve partout comme dans l'hypothalamus et autres



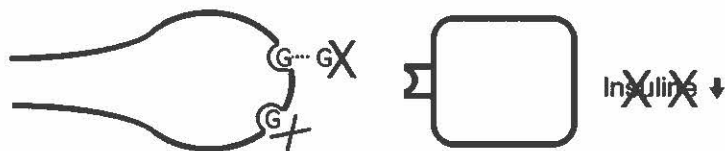
1. La galanine doit mimer les effets d'une activation sympathique par une action directe sur le pancréas.



2. La galanine doit être localisée dans les nerfs sympathiques afférents du pancréas.



3. La galanine doit être libérée lors d'une stimulation des nerfs sympathiques en quantité suffisante pour occasionner une réponse des îlots.



4. L'interférence avec l'action de la galanine ou de sa libération doit modifier la réponse pancréatique à l'activation neurale.

Figure 4. Schématisation des 4 critères permettant de considérer la galanine comme un neurotransmetteur sympathique dans le pancréas endocrine (tiré de Dunning et Taborsky, 1988).

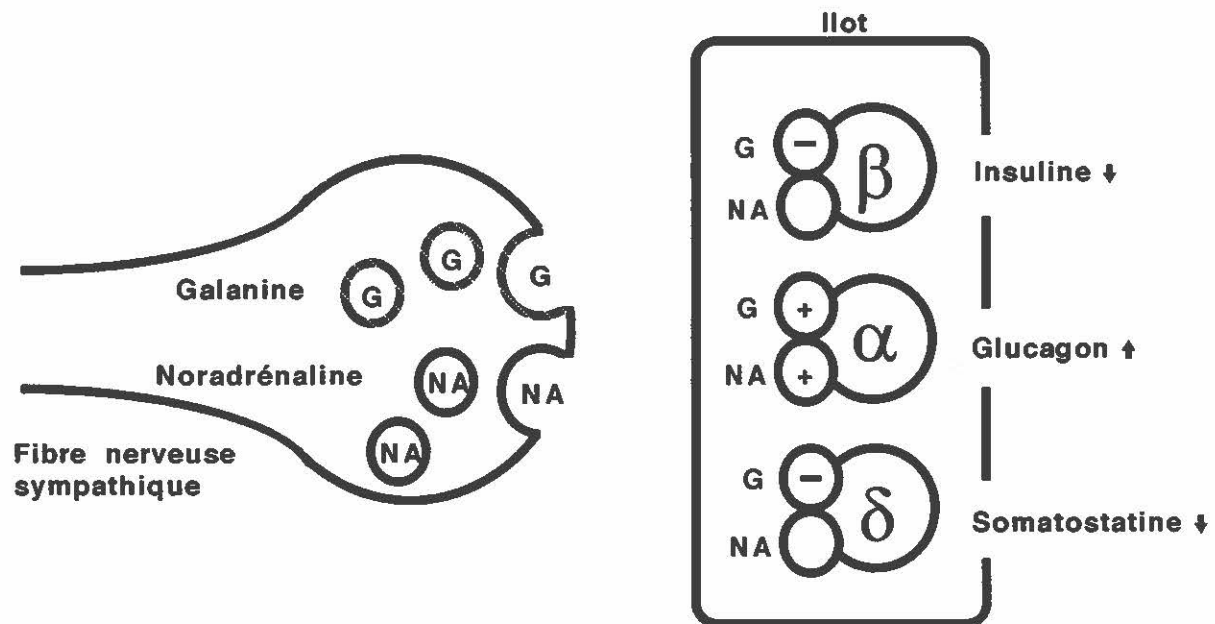


Figure 5. Schématisation de la cosécrétion de la galanine et de la noradrénaline et leurs effets sur la sécrétion basale des différentes cellules des îlots de Langerhans selon Dunning et Taborsky (1988).

régions du cerveau, dans l'hypophyse postérieure, la moelle épinière et les nerfs des systèmes respiratoire, génito-urinaire et médullo-surrénalien. Des liens ont été établis entre la galanine au niveau du système nerveux central et le contrôle de la prise alimentaire (Tatemoto, 1991). Des modifications du contenu en galanine de différentes régions cérébrales ont aussi été associées aux maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Chan-Palay, 1988; Rökaeus, 1987). La galanine possède donc probablement d'autres fonctions qui restent à déterminer.

Galanine et récepteurs

La galanine agit en se liant à un récepteur de haute affinité ($K_d=1,5$ nM) et de faible capacité (44 fmol/mg prot). L'extrémité N-term de la galanine (2 premiers a.a.) contenant un acide aminé aromatique en position 2 (tryptophane dans la galanine native) est crucial pour sa liaison au récepteur. L'extrémité C-term a aussi son importance mais serait impliqué dans l'amplitude de la réponse (Gallwitz et al., 1990; Lagny-Pourmir et al., 1989b). Des études ont démontré que le récepteur est couplé à une protéine de régulation GTP (études avec lignée de cellules Rin m5F, sécrétant de l'insuline). La liaison galanine-récepteur est température-dépendante, rapide, saturable, réversible, et très spécifique (Lagny-Pourmir et al., 1989a).

Effets physiologiques de la galanine pancréatique

La galanine utilisée dans les études peut être homologue (de même nature que l'espèce étudiée) ou hétérologue (de source différente, habituellement de porc). Les deux types peuvent être utilisés indifféremment, des études ayant démontré que ce sont les 15 acides aminés N-term. qui réagissent avec le

récepteur, ces 15 a.a. s'étant avérés identiques pour toutes les espèces étudiées (Gregersen et al. 1991). La différence se situera surtout au niveau de l'amplitude de la réponse comme expliquée précédemment.

Effets sur la sécrétion d'insuline

La galanine entraîne une hyperglycémie en inhibant la sécrétion d'insuline chez différentes espèces animales comme le chien, le rat, la souris, etc. Elle réduit le niveau basal d'insuline et inhibe la réponse plasmatique en insuline suite à l'administration i.v. de glucose ou autres sécrétagogues (Arg, CCK, glucagon, etc.) (Miralles et al. 1990). Il suffit d'une dose i.v. de 2,5 pmol/kg/min chez le chien pour réduire efficacement la sécrétion d'insuline, tout comme une dose 10 fois plus faible injectée directement dans l'artère pancréatique (action pancréatique directe). Chez l'humain, l'infusion i.v. de galanine humaine ou porcine n'inhibe pas la sécrétion d'insuline (McDonald et al. 1994). Par contre, sur des pancréas humains isolés, la galanine inhibe la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose (Ahrén et al. 1990). Les effets de la galanine chez l'humain restent donc à confirmer.

Trois mécanismes d'action différents sont proposés pour expliquer l'inhibition de la sécrétion de l'insuline par la galanine (Figure 1):

(1) Ouverture de canaux K^+ membranaires, entraînant l'hyperpolarisation, fermant les canaux Ca^{2+} , diminuant la concentration de Ca^{2+} cytoplasmique et diminuant la sécrétion d'insuline (Ahrén et al. 1986; Drews et al., 1990).

(2) Inhibition de l'activité de l'adénylate cyclase, diminuant la formation d'AMPC; cela a pour effet de paralyser l'exocytose et

d'augmenter la séquestration du Ca^{2+} , diminuant ainsi la concentration de calcium cytoplasmique (Lindskog et Ahrén, 1991).

(3) Interférence directe avec le processus d'exocytose par un mécanisme impliquant une protéine-G (Nilsson et al. 1989; Ullrich et Wollheim, 1989).

Effets sur la sécrétion de glucagon

Il existe moins de détails concernant les effets de la galanine sur la sécrétion de glucagon. On peut cependant s'attendre à l'inverse de ce qui se produit pour l'insuline. C'est ce qui se passe chez le chien et la souris, où la galanine stimule la sécrétion de glucagon, entraînant un effet hyperglycémiant, probablement en raison des effets combinés de la baisse d'insuline et de l'augmentation du glucagon (Ahrén et Lindskog, 1992; Miralles et al. 1990). Chez l'humain, aucun effet n'a été observé. En ce qui concerne les effets de la galanine sur le glucagon, des variations importantes ont été observées selon les espèces étudiées.

Problème posé, hypothèses et objectifs

La libération de galanine a été peu étudiée dans des situations physiologiques. L'ensemble des études utilisent la stimulation électrique des nerfs ou l'administration de galanine pour en déterminer les effets. Mais, selon ce qui est présenté précédemment, on devrait s'attendre à ce que la galanine soit libérée dans des situations où l'activation sympathique est élevée. L'activité physique est une situation physiologique pouvant potentiellement mener à une augmentation de la libération de galanine puisqu'elle permet l'activation du

système nerveux sympathique. La galanine pourrait donc, si elle est libérée, être impliquée dans la baisse de la sécrétion d'insuline à l'exercice.

Le but de cette étude est donc de déterminer s'il y aura augmentation de la quantité de galanine en circulation suite à l'activation du système nerveux sympathique provoquée par l'activité physique d'une certaine intensité. On pose donc comme préalable que la galanine, tout comme la noradrénaline, diffuse dans le plasma permettant ainsi sa détection.

CHAPITRE 2

APPROCHE EXPÉRIMENTALE

L'approche expérimentale a été réalisée en 2 volets. Le premier a voulu caractériser la libération de la galanine à l'exercice physique chez l'humain. Dans un deuxième temps, une étude similaire a été réalisée chez le rat, toujours dans le même but d'étudier la galanine à l'exercice.

Exercice physique et sécrétion de galanine

Galanine et exercice chez l'humain:

Cette étape fut réalisée pour évaluer la concentration plasmatique en galanine à l'exercice physique court et intense ou prolongé chez l'humain.

A) Exercice sous-maximal de 60 minutes.

Sujets: Six sujets masculins de 20 à 30 ans, en bonne condition physique ($\dot{V}O_2 \text{ max} = 63,90 \pm 4,71 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) ont volontairement participé à cette étude. Un formulaire de consentement (Annexe A) et une évaluation négative au questionnaire Q-AAP révisé (Thomas, Reading et Shephard, 1992) (Annexe B) ont été obtenus pour chacun des sujets. Différentes caractéristiques physiques des sujets ont été mesurées et sont présentées au tableau 1.

Protocole: Deux semaines avant l'expérimentation, la consommation maximale d'oxygène était mesurée. Le $\dot{V}O_2 \text{ max}$ était évalué directement au moyen d'un analyseur métabolique (Minjhardt OX-4, Odijk, Hollande) en suivant un protocole

Tableau 1. Caractéristiques physiques des sujets pour le protocole de galanine et exercice chez l'humain.

Variable	Exerc. progressif maximal	Exerc. sous-max. de 60 min.
n	6	6
Âge (an)	22,80±0,20	24,16±1,58
Taille (mètre)	1,74±0,04	1,75±0,03
Masse (kg)	72,70±2,91	70,70±2,28
% de graisse	12,89±2,47	---
$\dot{V}O_2$ max (mL.kg ⁻¹ min ⁻¹)	55,73±2,42	63,90±4,71

Note. résultats en moyenne±erreur-standard

sur ergocycle (#L-77, Lode's Instrumenten B.V., Groningen, Hollande) comportant des paliers de 2 minutes (Annexe C). À la seconde visite, les sujets se présentaient au laboratoire entre 7h00 et 8h00 du matin, suite à un jeûne de 12 heures. Un cathéter était implanté dans une veine antécubitale de l'avant-bras droit. Les sujets demeuraient au repos pendant 20 minutes alors qu'un soluté physiologique était infusé à un débit de 0,6 ml/min. Puis, un exercice d'une heure avec une charge équivalente à 58% du $\dot{V}O_2$ max était réalisé sur ergocycle par chacun des sujets. Les fréquences cardiaques étaient mesurées par un cardiotachymètre portatif (Polar). Des échantillons sanguins étaient prélevés dans des tubes sur EDTA avant l'exercice, à 15, 30, 45 et 60 minutes pendant l'exercice, puis 2 et 15 minutes suivant la fin de l'effort. Les échantillons sanguins étaient centrifugés et le plasma congelé à -80°C dans les 15 minutes suivant le prélèvement pour le dosage subséquent de la galanine, des catécholamines, du glucose et de l'insuline. Les préservatifs appropriés étaient préalablement ajoutés: du trasylol (Aprotinin, Boehringer Mannheim) 500 KTU/ml de sang, pour les échantillons où la galanine était dosée et 20 μ l d'une solution glutathion/EGTA (60 mg/ml et 90 mg/ml pH 7.00) par millilitre de sang pour les échantillons où les catécholamines étaient dosées.

B) Exercice progressif maximal ($\dot{V}O_2$ max).

Sujets: Six sujets masculins de 20 à 25 ans en bonne condition physique ($\dot{V}O_2$ max = $55,73 \pm 2,42$ ml.kg⁻¹.min⁻¹) ont volontairement participé à cette expérimentation. Un formulaire de consentement (Annexe A) et une évaluation

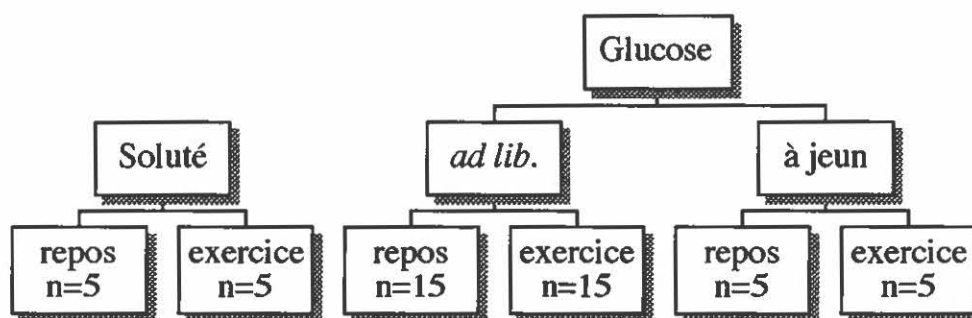
négative au questionnaire Q-AAP révisé (Thomas, Reading et Shephard, 1992) (Annexe B) ont été obtenus pour chacun des sujets.

Protocole: Les sujets arrivaient au laboratoire à jeun depuis au moins 2 heures. Certaines caractéristiques physiques (masse, taille, etc.) de chacun des sujets étaient évaluées (Tableau 1). Par la suite, un cathéter était implanté dans une veine antécubitale de l'avant-bras droit pour les prélèvements sanguins. Les sujets demeuraient au repos pour 20 minutes alors qu'un soluté physiologique stérile était infusé à un débit de 0,6 ml/min. Ensuite, une mesure du $\dot{V}O_2$ max était réalisée pour chacun des sujets. Le $\dot{V}O_2$ max était évalué directement avec un analyseur métabolique (Minjhardt OX-4, Odijk, Hollande) en suivant un protocole sur ergocycle comportant des paliers de 2 minutes (Annexe C). Les fréquences cardiaques étaient mesurées au moyen d'un cardiotachymètre portatif (Polar). Des échantillons sanguins étaient prélevés avec des seringues héparinées au repos avant le début de l'exercice, à 6 et 10 minutes pendant le $\dot{V}O_2$ max, immédiatement après l'atteinte du $\dot{V}O_2$ max et à 30 minutes après la fin de l'exercice. Les échantillons étaient centrifugés et le plasma congelé à -80°C pour le dosage subséquent de la galanine, des catécholamines, du glucose et de l'insuline. Les préservatifs appropriés étaient préalablement ajoutés: du trasylol (Aprotinin, Boehringer Mannheim) 500 KIU/ml de sang, pour les échantillons où la galanine était dosée et 20 μ l d'une solution glutathion/EGTA (60 mg/ml et 90 mg/ml pH 7.00) par millilitre de sang pour les échantillons où les catécholamines étaient dosées.

Galanine et exercice chez le rat

Ce protocole fait suite au précédent et a pour but d'examiner si la galanine est libérée à l'exercice chez le rat. Ce protocole impliquait des prélèvements du pancréas et du sang dans la veine porte hépatique, ce que ne permettait pas le protocole chez l'humain.

Animaux: 50 rats mâles Sprague Dawley avec un poids moyen de $390,7 \pm 50,2$ g ont été utilisés pour cette expérimentation. Ils étaient nourris *ad libitum* (*ad lib.*) et avaient un cycle 12h jour/12h nuit. L'expérimentation était réalisée entre 8 h et 11 h 30 le matin. Les rats furent répartis en 6 groupes comme suit:



Pour le groupe "soluté", les rats, séparés en repos et exercice, étaient nourris sans restriction et recevaient une solution de soluté physiologique en pré-exercice. Pour le groupe "glucose", les animaux recevaient une solution de D-glucose 0,7g/kg i.v. en pré-exercice. Ce groupe a été divisé en deux. Le premier où nous n'avons posé aucune restriction face à la nourriture disponible (groupe "glucose *ad lib.*") et un second où la nourriture était retirée 12 à 15 heures avant l'expérimentation (groupe "glucose à jeun"). Ces groupes ont aussi été séparés en "repos" et "exercice".

Protocole: Une semaine avant l'expérimentation, tous les rats étaient soumis à 3 sessions de nage en groupe (10, 15 et 20 minutes, lors de 3 jours différents) afin de préparer les animaux au stress occasionné par ce type d'exercice. Trois jours avant l'expérimentation, un cathéter de polyéthylène (PE-50, Intramedic, Becton-Dickinson), doublé au bout d'un tube siliconé (Silastic, Dow Corning), était implanté dans la veine jugulaire droite sous anesthésie au pentobarbital de sodium (40 mg/kg, intrapéritonéale). Pour les rats à jeun seulement, la nourriture était enlevée 12 à 15 heures avant l'expérimentation.

À l'expérimentation, une solution de D-glucose était administrée par la canule aux rats "glucose" (dextrose 0,7 g/kg dilué dans 0,5 ml/kg de soluté physiologique; Fisher Chemicals) alors qu'un volume équivalent de soluté physiologique stérile était administré par la canule aux rats "soluté". Après l'injection du glucose, le volume mort de la solution glucosée était poussé avec 0,3 ml de soluté physiologique. L'eau et la nourriture étaient retirées 30 minutes avant le sacrifice pour les rats "repos". Les rats soumis à l'exercice effectuaient 30 minutes de nage dans un bassin d'eau à 37°C avec surcharge de 5 % de leur poids corporel attaché à la base de la queue. L'eau avait reposé toute la nuit pour éviter la formation de bulles d'air dans le poil du rat lors de l'expérimentation, uniformisant ainsi la charge de travail.

Après exactement 30 minutes (pour les groupes "exercice" ou "repos"), les rats étaient anesthésiés au pentobarbital de sodium (40 mg/kg i.v. via la canule). Suite à une laparotomie, du sang était prélevé de la veine cave inférieure et de la veine porte-hépatique en moins d'une minute suivant l'anesthésie. Le sang était transféré et centrifugé dans des tubes de polystyrène adéquatement

identifiés, contenant les préservatifs appropriés pour les dosages subséquents de la galanine et des catécholamines. Une partie du pancréas était ensuite prélevée et congelée dans l'azote liquide. La conservation du plasma et des pancréas s'est effectuée à -80°C jusqu'aux dosages des galanines plasmatique et tissulaire, des catécholamines plasmatiques, des protéines tissulaires, de l'insuline plasmatique et du glucose plasmatique.

Analyses biochimiques:

Catécholamines plasmatiques

Les catécholamines plasmatiques (adrénaline et noradrénaline) sont dosées à l'aide de la technique radioenzymatique commerciale d'Amersham (TRK-995). Le principe en est le suivant (Figure 6): un groupement méthyl tritié est transféré à partir du S-adenosyl-L-[méthyl- ^3H] méthionine (^3H -SAM) sur l'adrénaline et la noradrénaline à l'aide de l'enzyme catéchol-o-méthyltransférase (COMT). La réaction entraîne donc la formation de ^3H -métanéphrine et de ^3H -normétanéphrine. Ces deux produits sont ensuite séparés par chromatographie sur couche mince. Une fois séparés, ils sont transformés en ^3H -vanilline par une réaction d'oxydation au périodate. La radioactivité de chaque catécholamine est proportionnelle à sa quantité mesurée dans les échantillons et est calculée en fonction d'un étalon inclus dans chaque dosage, pour chaque échantillon.

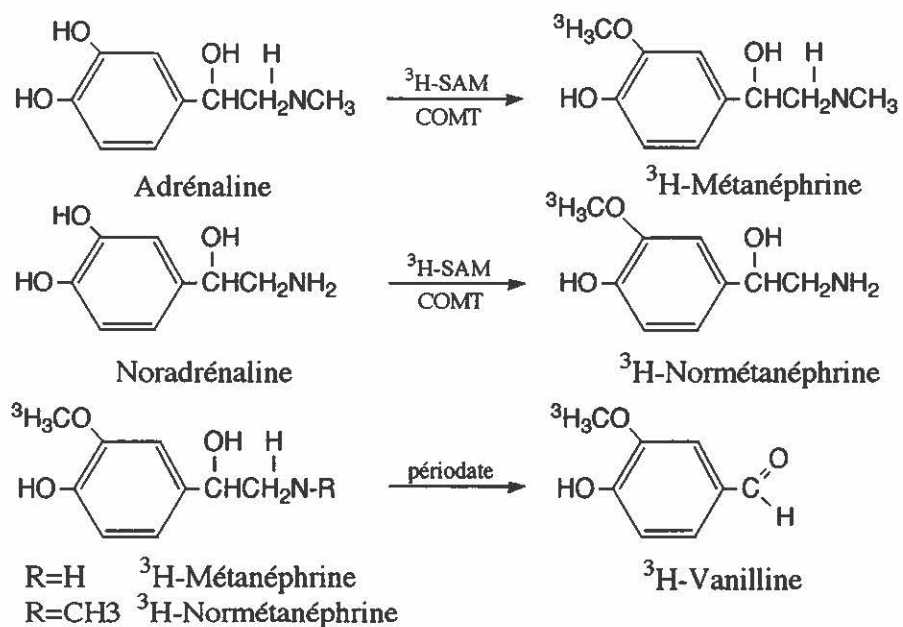
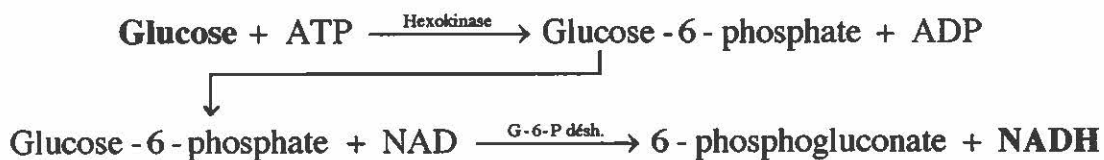


Figure 6. Conversion de l'adrénaline et de la noradrénaline en dérivés [^3H]méthoxy catalysés par l'enzyme COMT et oxydation au périodate de la métanéphrine et la normétanéphrine.

Glucose plasmatique

Le glucose plasmatique est mesuré par une méthode enzymatique (Sigma Chemical Co.). Cette méthode utilise des réactions enzymatiques couplées, catalysées par l'hexokinase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase comme suit:



Au cours de cette réaction, une quantité équimolaire de NAD est réduite en NADH. L'augmentation de l'absorbance qui en résulte à 340 nm est directement proportionnelle à la concentration en glucose.

Insuline plasmatique

L'insuline est dosée par une méthode radioimmunologique. Deux troussees commerciales ont été utilisées. La première pour le plasma de rats (ICN Biomedicals inc., Costa Mesa, CA) et la seconde pour le plasma humain (Immunocorp, Montréal, Qué.). Le principe de ces tests est le même et consiste en une compétition entre l'insuline plasmatique et de l'insuline radioactive (I-¹²⁵) pour une quantité limitée d'anticorps. Plus il y aura d'insuline dans les échantillons, moins il se fixera d'insuline radioactive sur les anticorps (Figure 7).

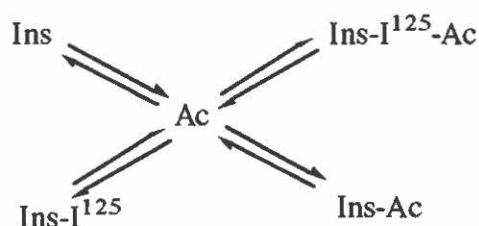


Figure 7. Schématisation de la compétition entre l'insuline contenue dans les échantillons et l'insuline radioactive pour une quantité limitée d'anticorps pour la formation de complexes antigène-anticorps.

La radioactivité est déterminée par comptage bêta et la concentration d'insuline des échantillons est lue sur une courbe d'étalonnage.

Galanine plasmatique

Cent microlitres d'étalon (galanine porcine synthétique, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) ou de plasma et 200 μ l d'anticorps anti-galanine (Milab, Suède) dilués 1/10000 sont incubés pour 24h à 4°C. Puis, 200 μ l de galanine-I¹²⁵ (~4pg/tubes) (NEN, DuPont Canada Inc, Markham, Ontario) sont ajoutés et l'incubation prolongée pour un autre 24 heures à 4°C. Cinq cent microlitres

d'une suspension contenant 0,5 % de charbon activé et 0,05 % de dextran T-70 dans le diluant d'essai sans trasylol sont ajoutés et les tubes sont incubés pour 15 minutes à 4°C. Les tubes sont ensuite centrifugés à 1700g pour 15 minutes à 4°C. La radioactivité dans le surnageant est comptée pour 2 minutes et la concentration est évaluée en fonction d'une courbe étalon. Le diluant d'essai utilisé pour les étalons, la galanine- I^{125} et les anticorps est du tampon phosphate 0,05 M, pH 7.4 contenant 0,25% d'albumine de sérum humain, 0,25% EDTA, 0,05% NaN_3 et 500 KIU trasylol/ml de solution.

Galanine tissulaire

Les pancréas sont homogénéisés dans 10 ml d'acide acétique 0,5 M par gramme de tissu à l'aide d'un mortier. Les échantillons ainsi homogénéisés sont ensuite bouillis 15 minutes dans un bain-marie puis placés brièvement sur la glace et centrifugés à 0°C, 15 minutes à 1935g. Les surnageants sont recueillis par décantation puis mis à geler à -80°C. Pour le dosage, les homogénats sont utilisés directement et le dosage s'effectue comme pour la galanine plasmatique.

Protéines tissulaires

Les protéines tissulaires ont été déterminées à l'aide d'un dérivé commercial des méthodes Biuret et Lowry (Sigma Diagnostics). L'échantillon protéique est mélangé au réactif de Biuret et ensuite avec le réactif phénol de Folin et Ciocalteu. Ce processus permet une réaction colorée visible et quantifiable au spectrophotomètre dans le spectre visible (740 nm). La concentration de protéines est déterminée par comparaison avec une courbe étalon.

Analyses statistiques

Chez l'humain, les résultats ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA) à 1 facteur suivi d'un test post-hoc de Fisher (Fisher's protected LSD), la variable indépendante étant le temps. Chez l'animal, les résultats ont aussi été soumis à une analyse de variance, doublée d'un test d'indépendance multiple (test-t par la méthode des moindres carrés) et suivi d'un test post-hoc de Fisher (Fisher's protected LSD). Le niveau de probabilité de $p < 0,05$ était retenu comme seuil pour signaler une différence significative entre 2 mesures (voir exemple en annexe D). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ erreur standard.

Le coefficient de corrélation linéaire (r) a été évalué suite à une régression simple et le niveau de probabilité retenu était aussi de $p < 0,05$ (Annexe D).

CHAPITRE 3

RÉSULTATS

Galanine et exercice chez l'humain:

Exercice sous-maximal de 60 minutes.

Les fréquences cardiaques mesurées (Figure 8) au repos sont de $75,17 \pm 5,81$ battements par minute (batt/min). Elles augmentent significativement ($p < 0,05$) pour atteindre une valeur de $153,50 \pm 2,58$ batt/min à la 15^{ème} minute d'effort pour ensuite se stabiliser autour de 160 batt/min pour le reste de la période d'effort.

Pour cet exercice sous-maximal d'une heure, des échantillons sanguins ont été prélevés avant l'exercice (repos), à 15, 30, 45, et 60 minutes pendant l'exercice, puis 2 et 15 minutes suivant la fin de l'exercice.

Les catécholamines plasmatiques ont été mesurées au repos, à 30 et 60 minutes pendant l'exercice et à 15 minutes suivant la fin de l'exercice. Au repos, la concentration des catécholamines est de $2,78 \pm 0,90$ nM pour la noradrénaline et $266,79 \pm 45,53$ pM pour l'adrénaline. À l'exercice, la concentration de noradrénaline est significativement plus élevée ($p < 0,05$) avec une valeur de $8,26 \pm 1,45$ nM à 30 minutes d'exercice et $6,22 \pm 0,81$ nM après 60 minutes d'effort. Il en va de même pour l'adrénaline qui atteint une valeur de $1370,59 \pm 188,94$ pM à 30 minutes et $1580,75 \pm 454,38$ nM à 60 minutes d'effort. Nous observons ensuite un retour aux valeurs de repos 15 minutes suivant la fin de l'exercice, et ce autant pour la noradrénaline que pour l'adrénaline (Figure 9).

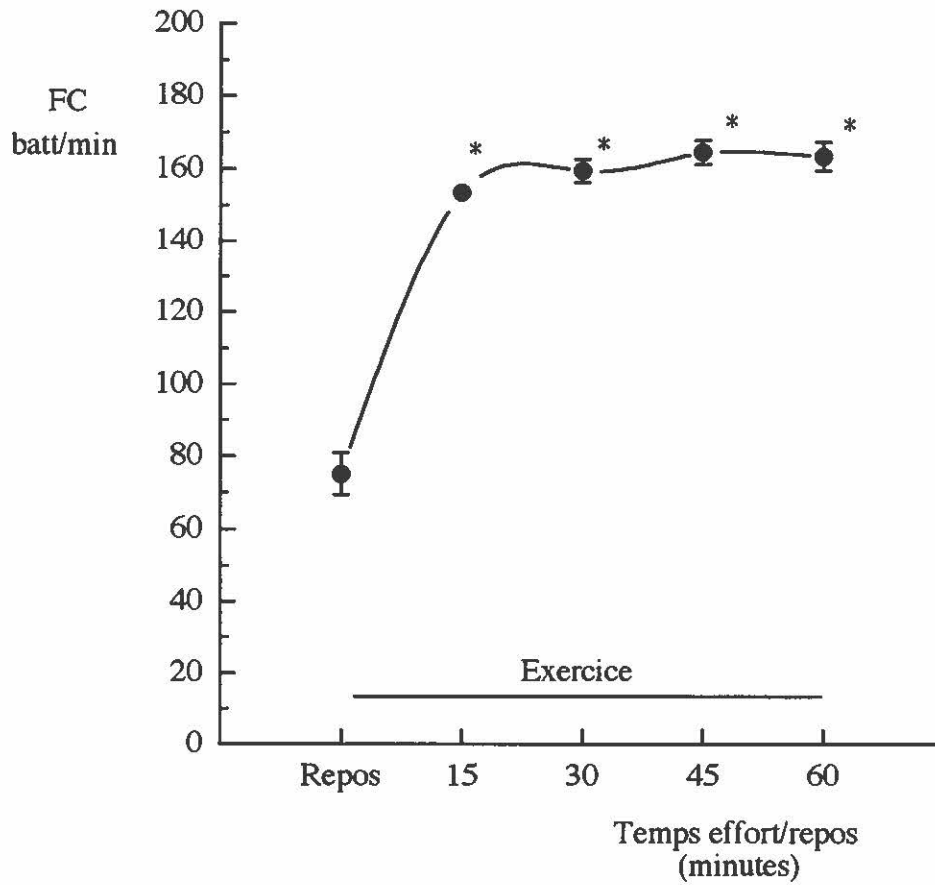


Figure 8. Fréquences cardiaques (batt/min) pour les sujets humains à l'exercice sous-maximal de 60 minutes.

* $p < 0,05$ vs repos.

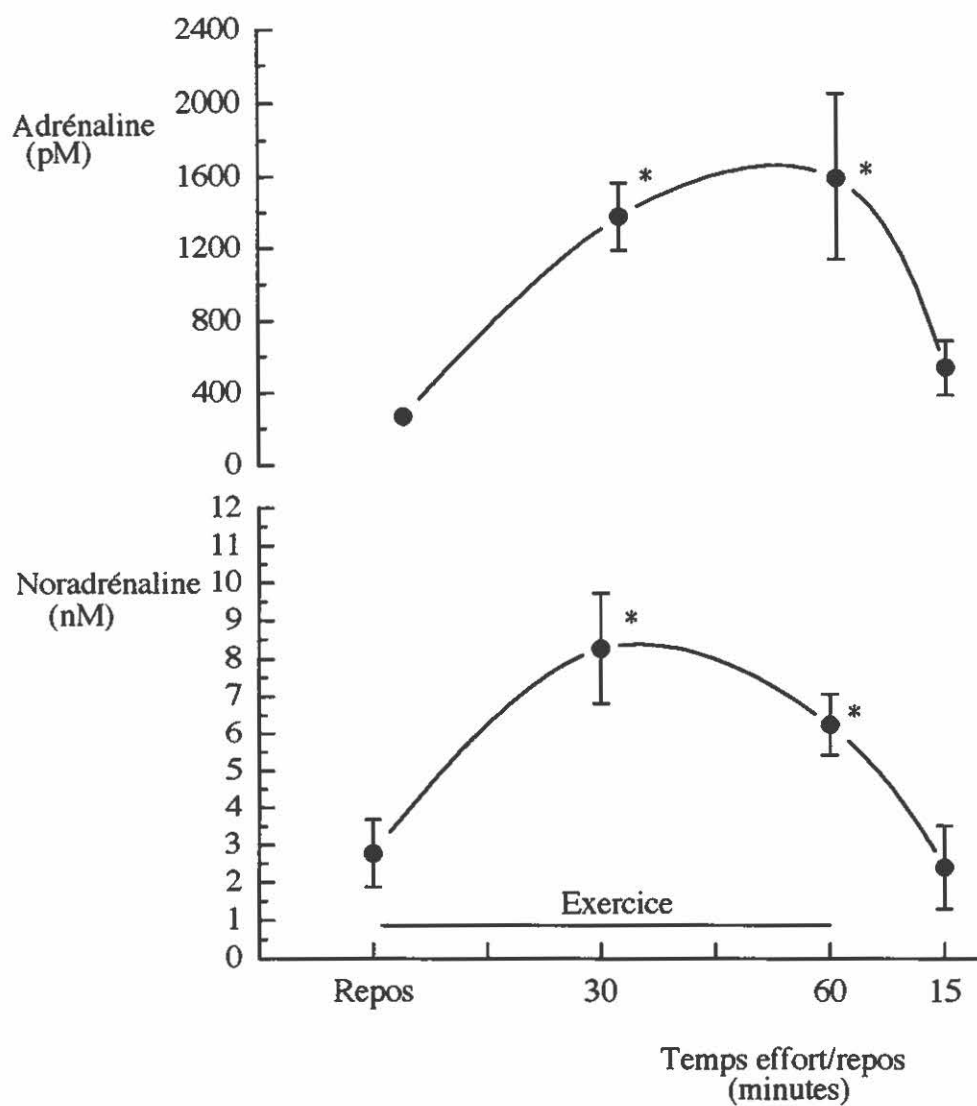


Figure 9. Catécholamines plasmatiques (adrénaline pM et noradrénaline nM) pour les sujets humains à l'exercice sous-maximal de 60 minutes.
* $p < 0,05$ vs repos correspondant

Pour ce qui est de la galanine, sa concentration plasmatique de repos est de $39,17 \pm 5,33$ ng/l et se maintient tout au long de l'exercice et de la période de récupération (Figure 10).

La concentration de glucose plasmatique au repos est de $5,63 \pm 0,66$ mM. Aucune variation significative de cette concentration n'est observée pendant et après la période d'exercice (Figure 11).

La concentration basale d'insuline plasmatique est de $87,20 \pm 21,66$ pM. Pendant et après l'exercice, la concentration d'insuline plasmatique ne varie pas significativement, les valeurs obtenues se comparant à la valeur de repos (de $87,50 \pm 25,92$ à $170,67 \pm 64,30$ pM) (Figure 12).

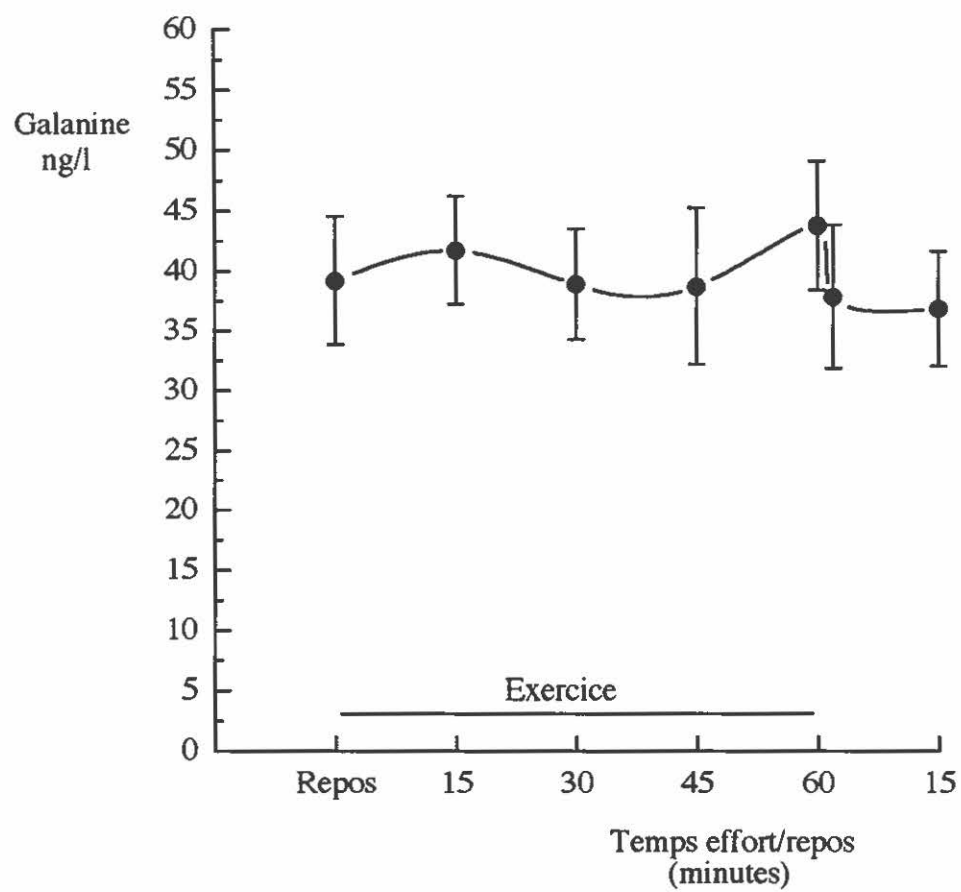


Figure 10. Galanine plasmatique (ng/l) pour les sujets humains à l'exercice sous-maximal de 60 minutes.

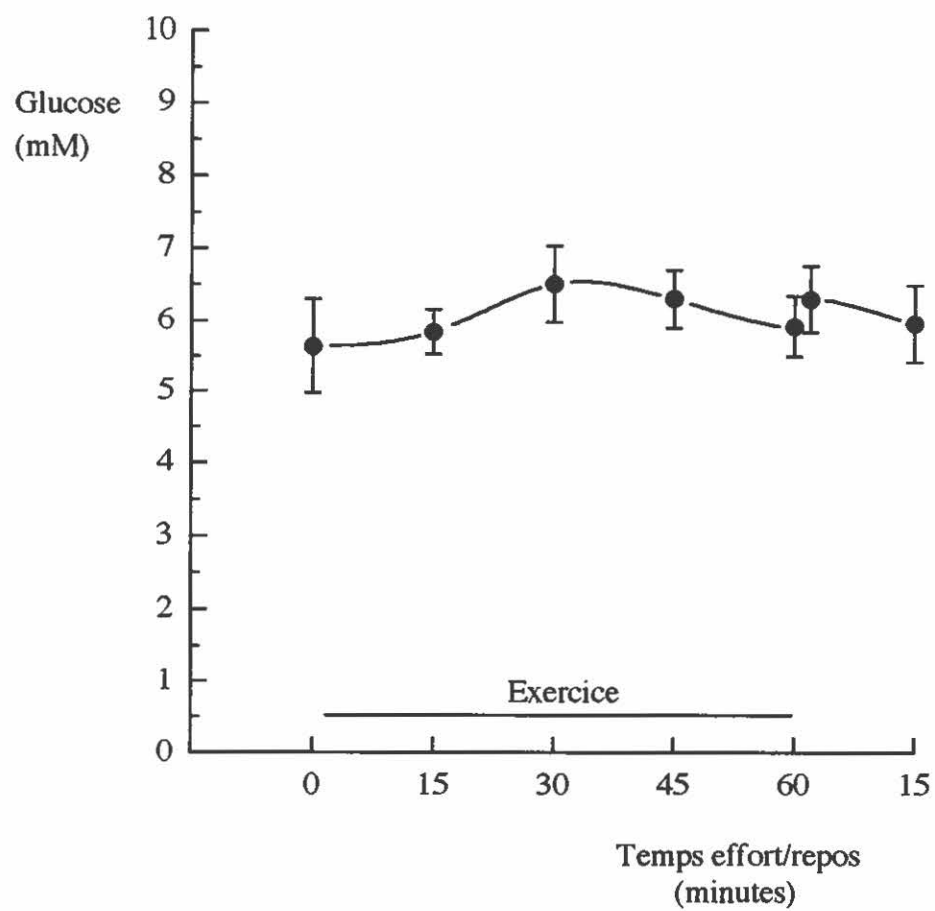


Figure 11. Glucose plasmatique (mM) pour les sujets humains à l'exercice sous-maximal de 60 minutes.

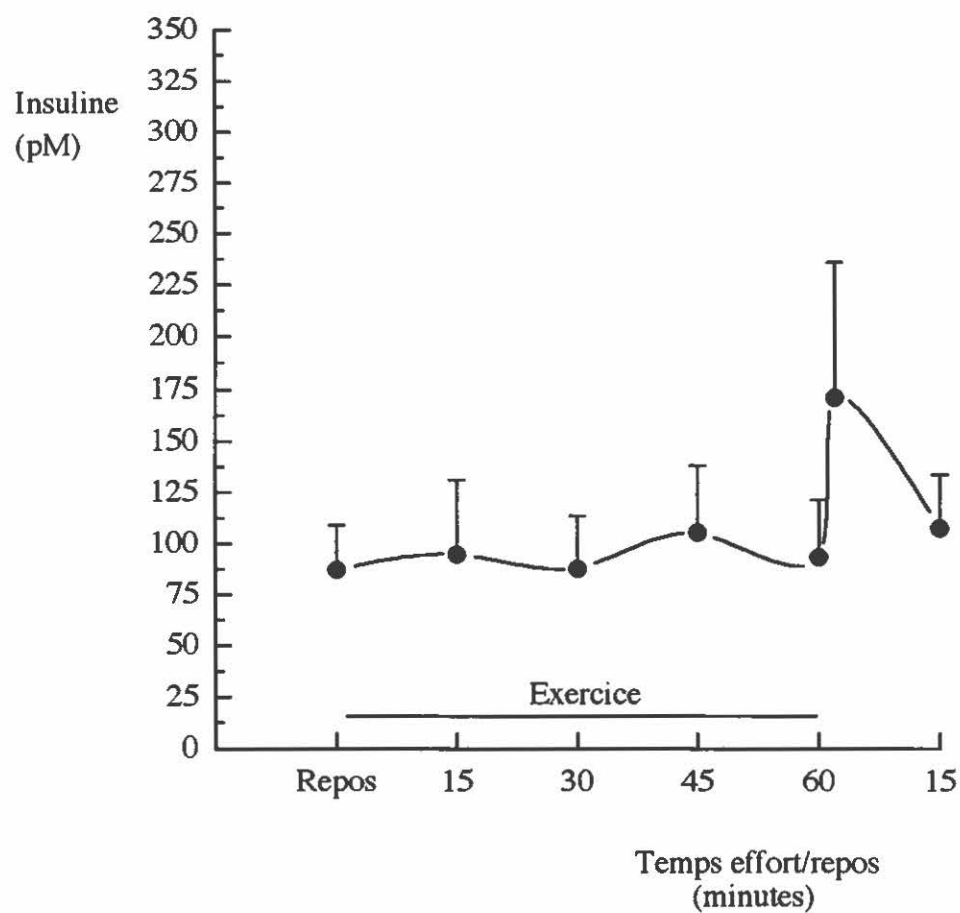


Figure 12. Insuline plasmatique (pM) pour les sujets humains à l'exercice sous-maximal de 60 minutes.

Exercice progressif maximal ($\dot{V}O_{2max}$)

Les fréquences cardiaques (Figure 13) sont de $89,5 \pm 7,5$ batt/min au repos. À l'effort, elles augmentent significativement ($p < 0,05$) à $139,36 \pm 4,25$ batt/min à 6 minutes et à $174,92 \pm 4,21$ après 10 minutes. Immédiatement après l'exercice, les fréquences cardiaques demeurent significativement plus élevées ($p < 0,05$) à $181,46 \pm 3,32$ batt/min. Cependant, après 15 et 30 minutes de récupération, elles reviennent près des valeurs de repos.

Pour ce protocole d'exercice maximal, des échantillons sanguins sont prélevés avant le début de l'exercice (repos), à 6 et 10 minutes pendant l'exercice, immédiatement après l'atteinte du $\dot{V}O_{2max}$ et à 30 minutes après la fin de l'exercice.

Les catécholamines plasmatiques ont été mesurées au repos, à 10 minutes d'exercice et 30 minutes suivant la fin de l'exercice. Les concentrations au repos sont de $2,21 \pm 0,22$ nM pour la noradrénaline et $313,62 \pm 62,13$ pM pour l'adrénaline. La noradrénaline augmente significativement ($p < 0,05$), atteignant une valeur de $7,29 \pm 1,55$ nM après 10 minutes d'exercice. Il en va de même pour l'adrénaline qui atteint une valeur de $933,10 \pm 155,07$ pM au même moment. Après 30 minutes suivant la fin de l'exercice, nous ne pouvons observer un retour aux valeurs de repos que pour l'adrénaline, les concentrations de noradrénaline étant toujours significativement plus élevées (Figure 14).

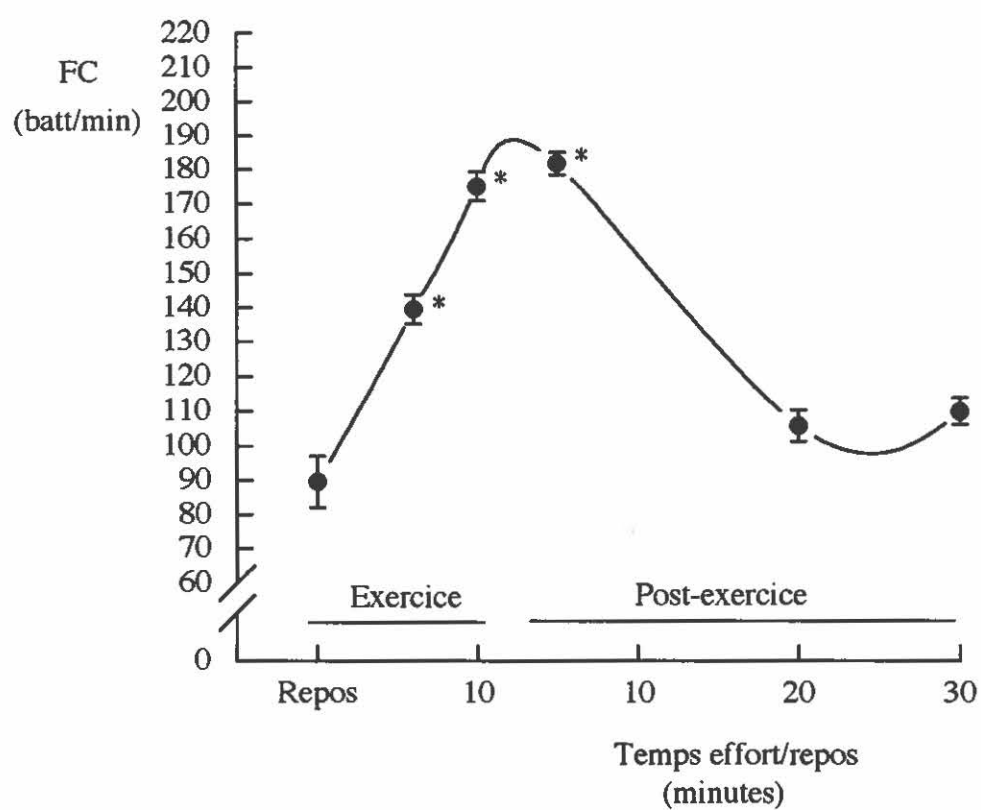


Figure 13. Fréquences cardiaques (batt/min) pour les sujets humains à l'exercice progressif maximal.

* $p < 0,05$ vs repos

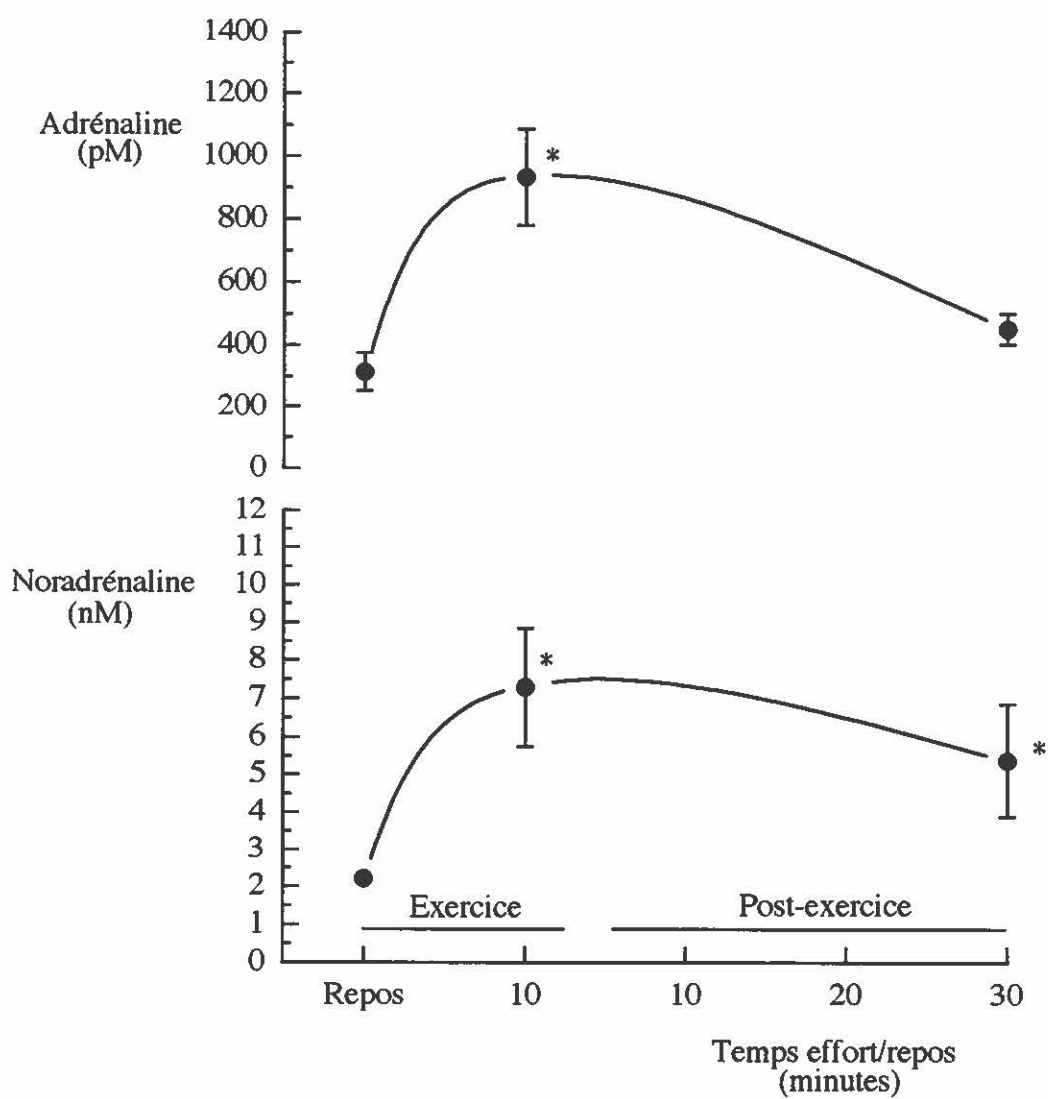


Figure 14. Concentration des catécholamines plasmatiques (adrénaline, pM et noradrénaline, nM) pour les sujets humains à l'exercice progressif maximal.

* $p < 0,05$ vs repos correspondant

Pour ce qui est de la galanine, la concentration plasmatique de repos est de $42,45 \pm 4,44$ ng/l et se maintient tout au long de l'exercice et de la période de récupération (Figure 15)

La concentration de glucose plasmatique au repos est de $6,64 \pm 0,31$ mM. Aucune variation significative de cette concentration n'est observée pendant et après la période d'exercice (Figure 16).

La concentration basale d'insuline plasmatique est de $524,94 \pm 111,51$ pM. À 5 et 10 minutes pendant l'exercice, la concentration d'insuline plasmatique diminue significativement à $194,50 \pm 24,77$ pM et $229,20 \pm 25,47$ pM ($p < 0,05$) puis retourne à une valeur approchant la valeur de repos 30 minutes suivant la fin de l'exercice (Figure 17).

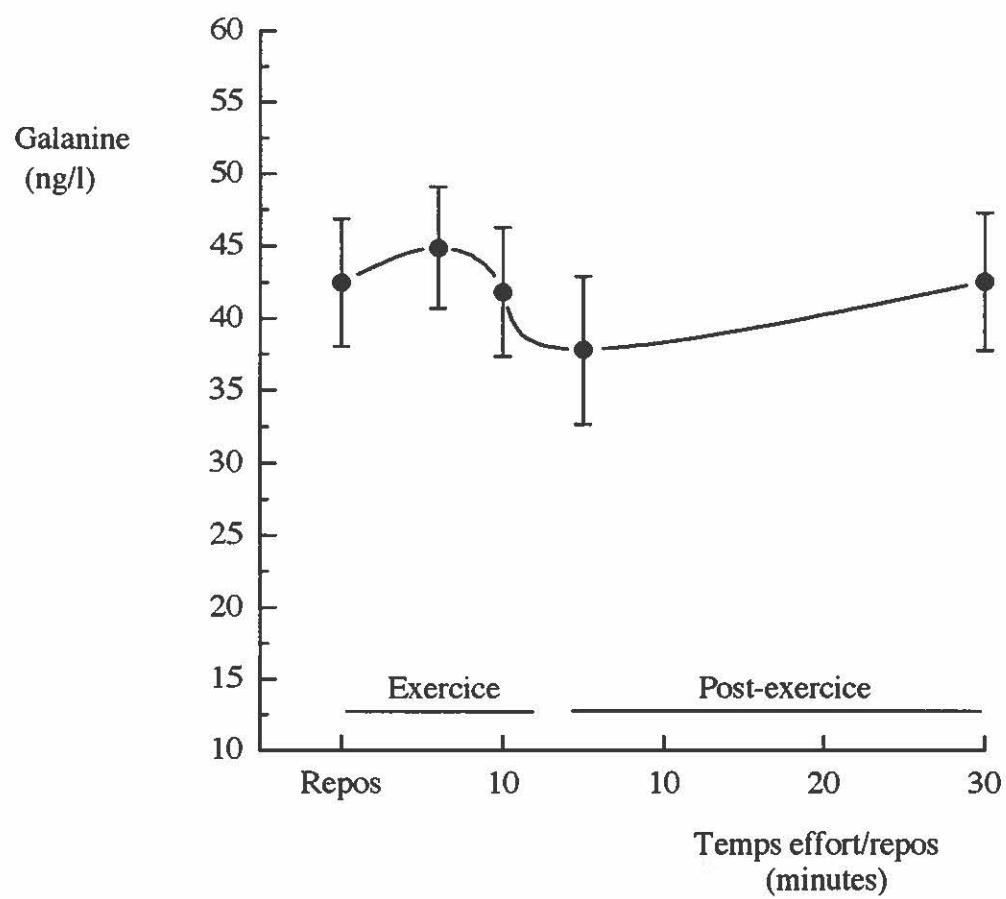


Figure 15. Galanine plasmatique (ng/l) pour les sujets humains à l'exercice progressif maximal.

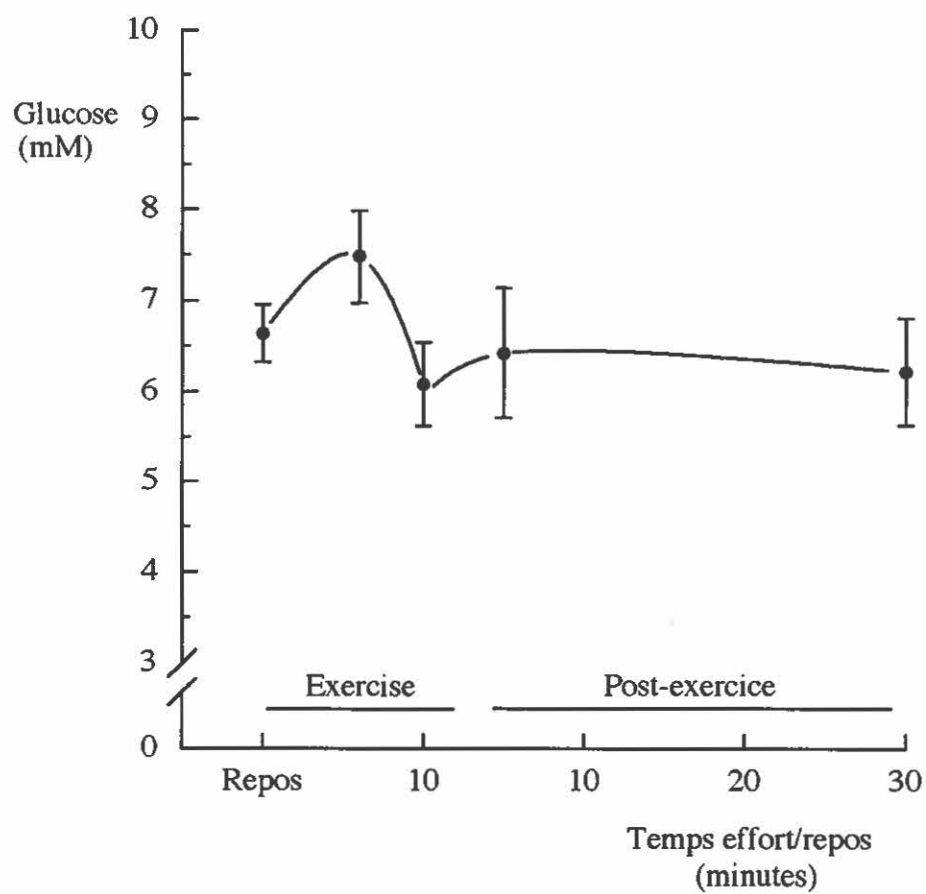


Figure 16. Glucose plasmatique (mM) pour les sujets humains à l'exercice progressif maximal.

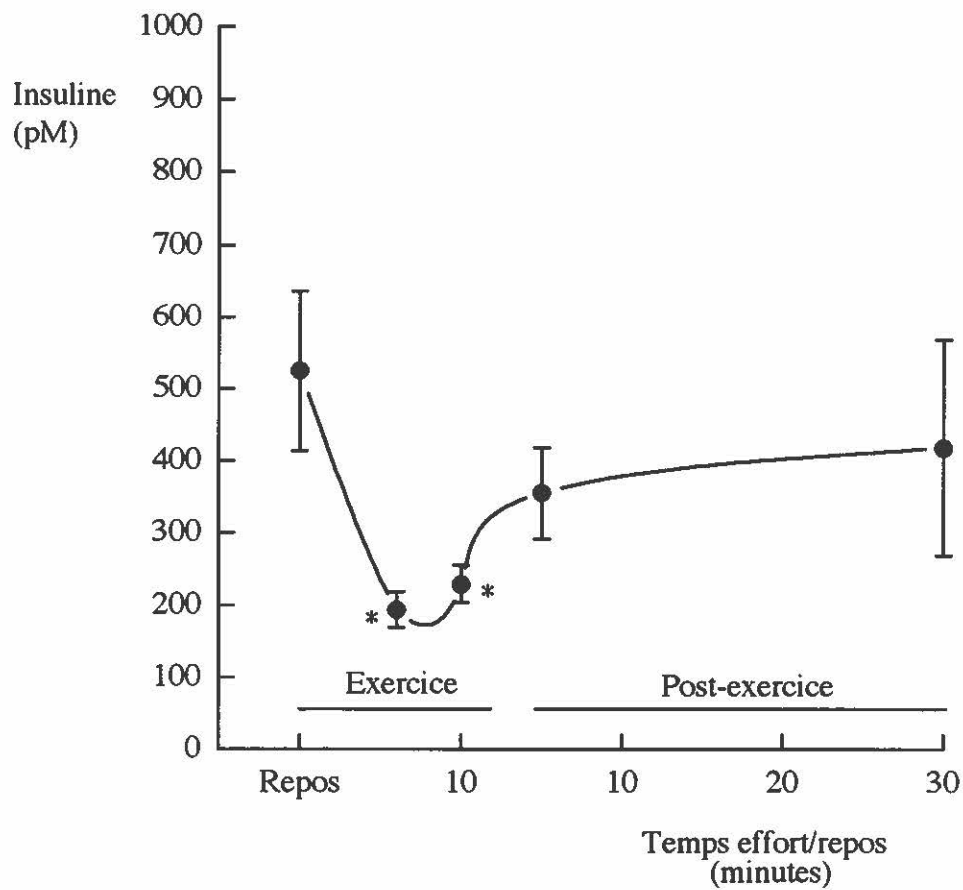


Figure 17. Insuline plasmatique (pM) pour les sujets humains à l'exercice progressif maximal.

* $p < 0,05$ vs repos.

Galanine et exercice chez le rat:

L'utilisation du rat comme modèle animal nous a permis de prélever du sang dans la veine porte, la veine cave et une partie du pancréas. L'effort réalisé consistait en une épreuve de nage de 30 minutes avec surcharge de 5 % du poids corporel. Les prélèvements ont été effectués après 30 minutes d'effort ou de repos selon les groupes.

La noradrénaline plasmatique (Figure 18) est significativement plus basse pour les prélèvements effectués dans la veine cave comparativement aux prélèvements effectués dans la veine porte pour 2 des 3 conditions expérimentales. De plus, elle varie significativement ($p < 0,05$) pour tous les prélèvements recueillis dans la veine cave pour tous les groupes après l'exercice. Pour le groupe soluté, la concentration de repos est de $1,71 \pm 0,52$ nM et passe à $3,66 \pm 0,42$ nM suivant l'exercice. Pour le groupe glucose à jeun, elle est de $0,98 \pm 0,34$ nM au repos et de $4,99 \pm 0,75$ nM suivant l'effort. Pour le groupe glucose *ad lib.*, les 2 prélèvements présentent une augmentation significative ($p < 0,05$) de la concentration plasmatique de noradrénaline suite à l'effort. Dans la veine porte, elle passe de $5,10 \pm 0,26$ nM au repos à $6,77 \pm 1,02$ nM après l'exercice et, dans la veine cave, de $1,92 \pm 0,32$ nM à $3,96 \pm 0,43$ nM.

La galanine plasmatique n'augmente significativement ($p < 0,05$) que pour le groupe glucose *ad lib.* La concentration basale dans la veine porte est de $21,12 \pm 5,61$ ng/l et augmente à $50,50 \pm 12,07$ ng/l suite à l'effort. Il en va de même pour la concentration dans la veine cave qui passe de $16,19 \pm 5,36$ ng/l au repos à $37,92 \pm 9,27$ ng/l en post-exercice. Pour les autres prélèvements, aucune variation n'est mesurable entre les conditions de repos et d'exercice. Pour le groupe

soluté, une concentration près de 19 ng/l est mesurée dans la veine porte, alors que pour la veine cave, elle se situe autour de 13 ng/l. Pour le groupe glucose à jeun, la concentration se situe autour de 30 ng/l pour l'ensemble des prélèvements (Figure 19).

La galanine mesurée directement dans le pancréas (Figure 20) se retrouve en quantité significativement ($p < 0,05$) plus importante après l'exercice pour 2 de nos 3 conditions. Le groupe soluté présente une concentration basale de $25,41 \pm 0,92$ ng/mg prot. et, après l'effort, de $35,72 \pm 5,44$ ng/mg prot. alors que le groupe glucose *ad lib.* démontre une quantité de 23,37 ng/mg prot. au repos et de $30,69 \pm 2,31$ ng/mg prot. en post-exercice. Pour le groupe glucose à jeun, la concentration ne varie pas suite à l'effort et demeure autour de 28 ng/mg prot.

Le glucose plasmatique n'a augmenté significativement suite à l'exercice que pour le groupe glucose *ad lib.* Pour les prélèvements effectués dans la veine porte et dans la veine cave respectivement, il est passé de $8,39 \pm 0,96$ mM et $7,38 \pm 0,54$ mM au repos, à $13,79 \pm 1,52$ mM et $12,52 \pm 1,29$ mM après l'exercice. Pour les autres groupes, il varie d'environ 9 à 12 mM pour le groupe soluté et d'environ 7 à 9 mM pour le groupe glucose à jeun sans que les variations ne soient significatives entre les groupes repos et post-exercices (Figure 21).

L'insuline plasmatique (Figure 22) ne diminue significativement ($p < 0,05$) que pour les prélèvements effectués dans la veine porte pour le groupe glucose *ad lib.* La concentration passe de $909,23 \pm 224,03$ pM au repos à $540,18 \pm 55,07$ pM suivant l'effort. Les autres prélèvements ne présentent aucune variation importante entre les prélèvements au repos ou suivant l'exercice. Les concentrations sont par contre généralement plus élevées dans la veine porte.

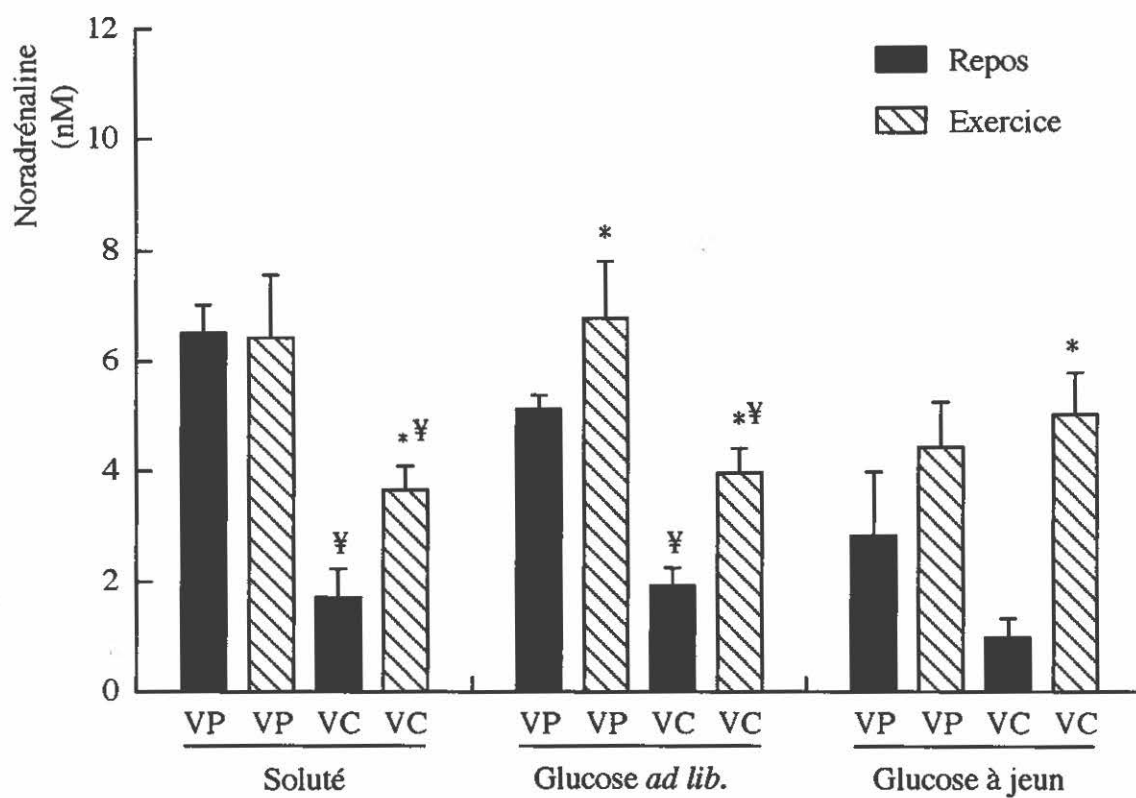


Figure 18. Noradrénaline plasmatique (nM) de rats au repos ou suivant un exercice de 30 minutes avec 5% du poids corporel suite à une injection i.v. de soluté physiologique ou de glucose (0,7g/kg).

VP=veine porte; VC=veine cave

* $p < 0,05$ vs repos correspondant

‡ $p < 0,05$ vs VP correspondante

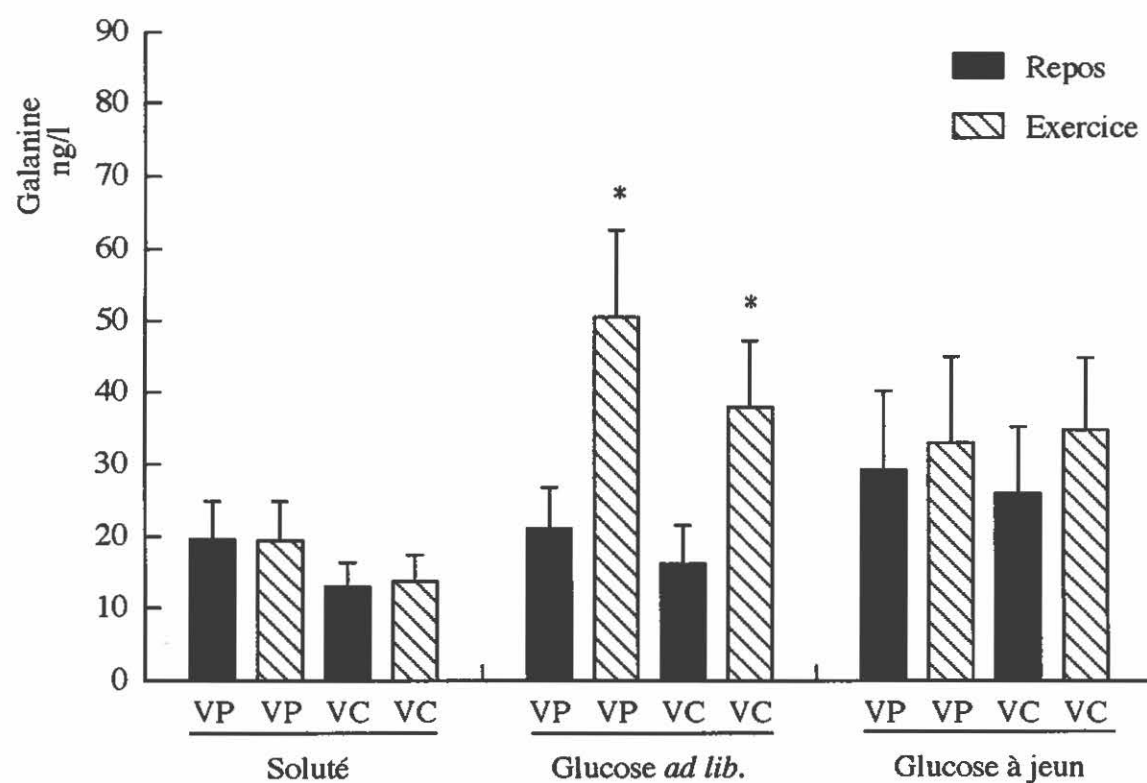


Figure 19. Galanine plasmatique (ng/l) de rats au repos ou suivant un exercice de 30 minutes avec 5% du poids corporel suite à une injection i.v. de soluté physiologique ou de glucose (0,7g/kg).

VP=veine porte; VC=veine cave

* $p < 0,05$ vs repos correspondant

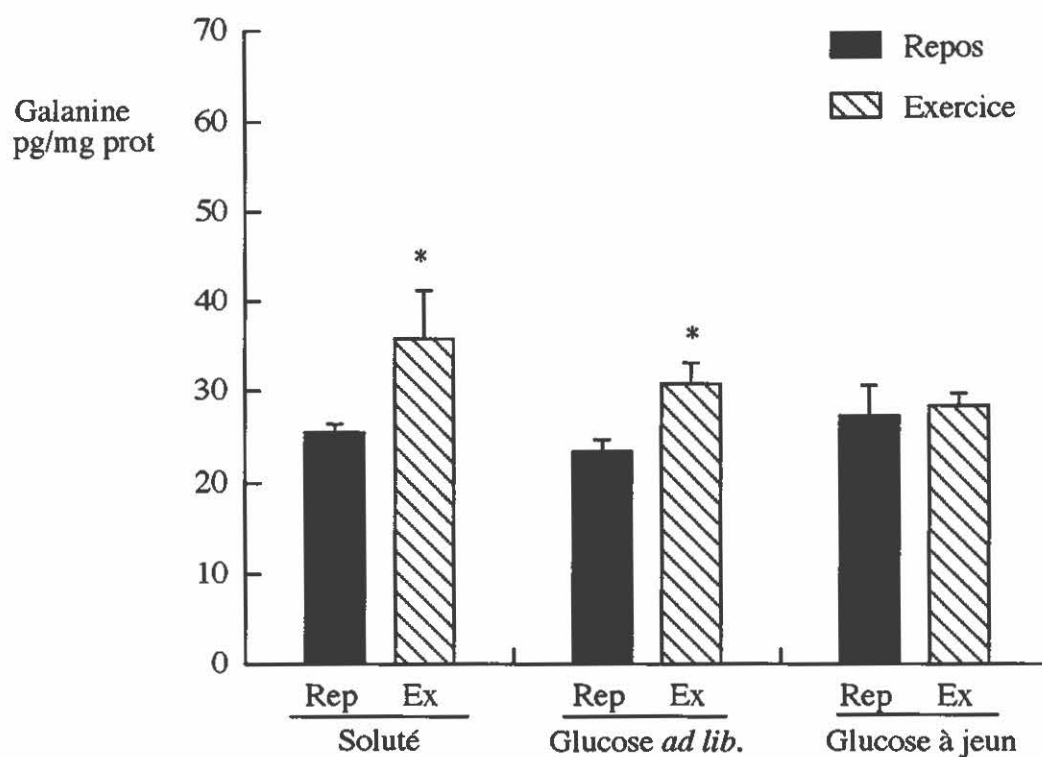


Figure 20. Galanine pancréatique (pg/mg de protéine) de rats au repos ou suivant un exercice de 30 minutes avec 5% du poids corporel suite à une injection i.v. de soluté physiologique ou de glucose (0,7g/kg).
* $p < 0,05$ vs repos correspondant

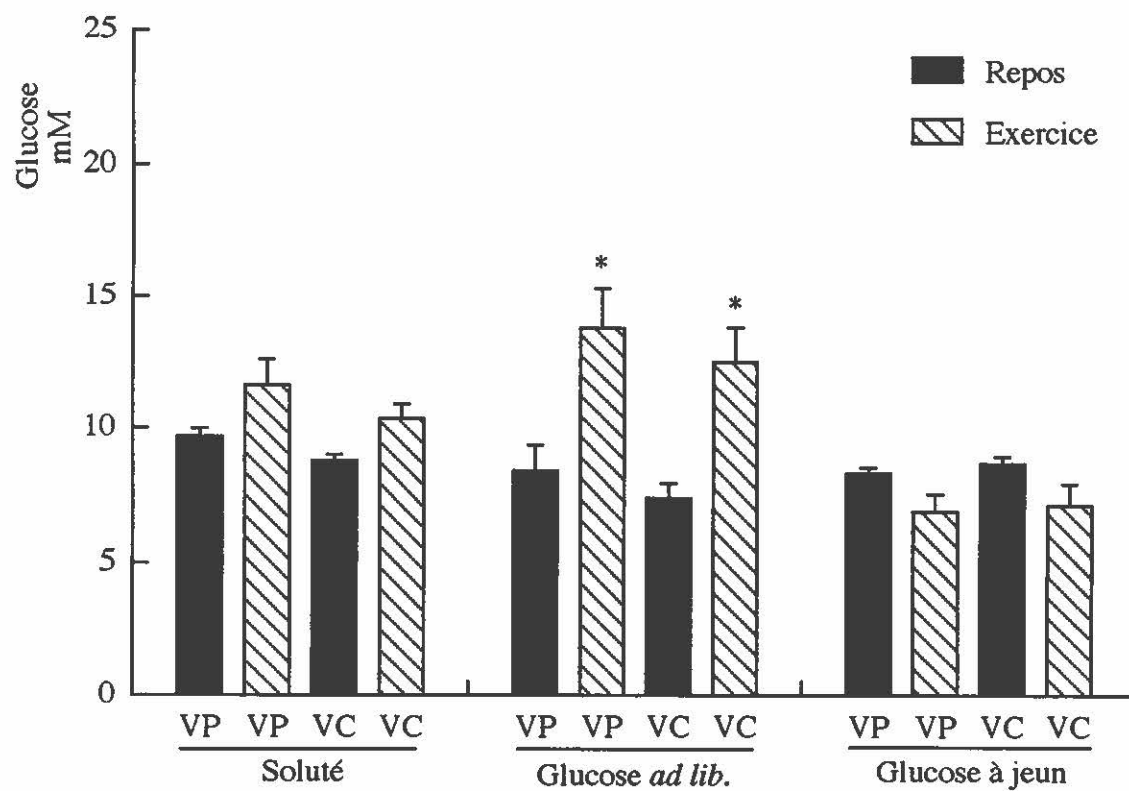


Figure 21. Glucose plasmatique (mM) de rats au repos ou suivant un exercice de 30 minutes avec 5% du poids corporel suite à une injection i.v. de soluté physiologique ou de glucose (0,7g/kg).

VP=veine porte; VC=veine cave

* $p < 0,05$ vs repos correspondant

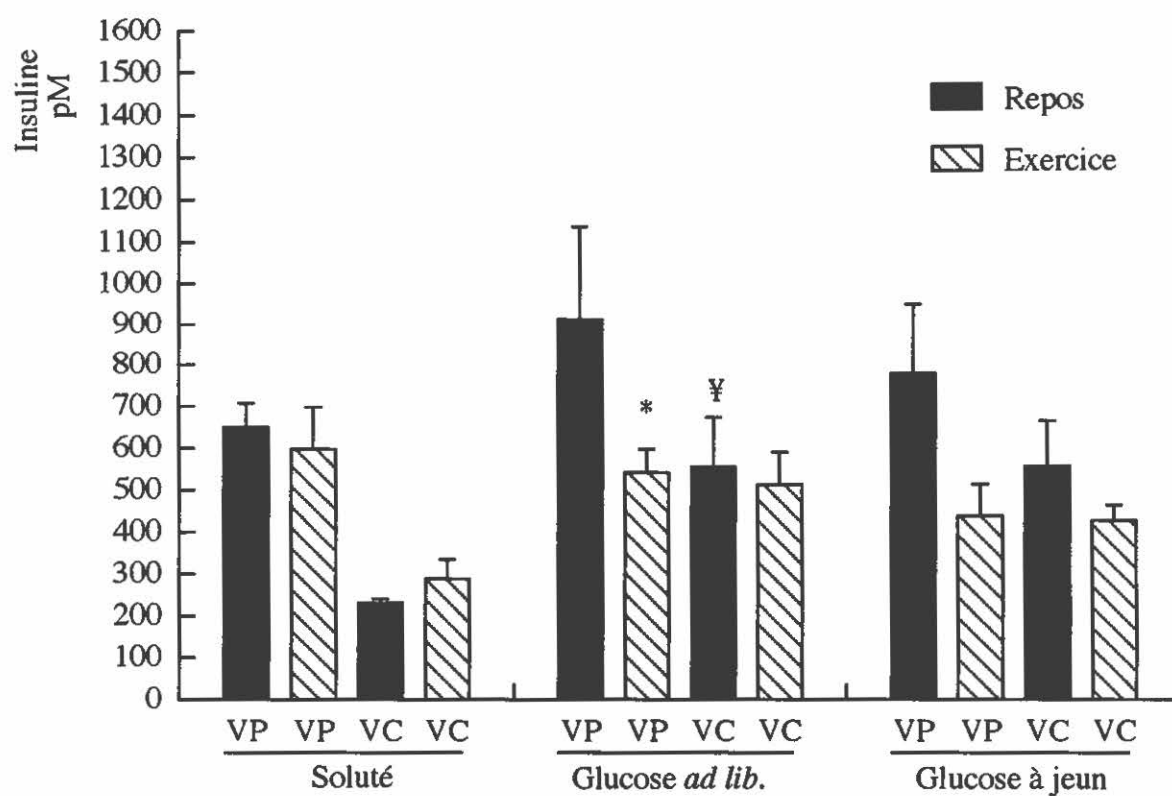


Figure 22. Insuline plasmatique (pM) de rats au repos ou suivant un exercice de 30 minutes avec 5% du poids corporel suite à une injection i.v. de soluté physiologique ou de glucose (0,7g/kg).

VP=veine porte; VC=veine cave

* $p < 0,05$ vs repos correspondant

¥ $p < 0,05$ vs VP correspondant

CHAPITRE 4

DISCUSSION

Galanine et exercice chez l'humain

Exercice sous-maximal de 60 minutes

En premier lieu, nous avons utilisé un protocole d'exercice sous-maximal chez l'homme dans le but d'évaluer la concentration plasmatique de galanine à l'exercice prolongé d'intensité modérée. Ce protocole sous-maximal, comme mentionné précédemment, consistait en un exercice d'une heure sur ergocycle avec une charge fixée à 58 % de la consommation maximale d'oxygène.

Tel qu'attendu, les fréquences cardiaques ont augmenté avec l'effort, dépassant les 150 batt/min. Au-delà de cette valeur, il est démontré que le système sympathique est activé (Galbo, 1983). Pour les concentrations des catécholamines plasmatiques on obtient des valeurs de repos conformes à celles de la littérature (Galbo, 1983) et ne démontrant que très peu de variations entre les sujets (Figure 9). Par la suite, on peut constater qu'à l'effort (30 et 60 minutes), l'adrénaline et la noradrénaline augmentent significativement ($p < 0,05$) par rapport aux valeurs mesurées au repos. Les concentrations d'adrénaline et de noradrénaline retournent près des valeurs de repos 15 minutes suivant la fin de l'effort. Ces résultats des catécholamines et de la fréquence cardiaque nous indiquent que notre protocole d'effort était suffisamment important pour provoquer l'activation du système nerveux sympathique.

Au niveau de la galanine plasmatique (Figure 10) nous avons mesuré une concentration de repos d'environ 40 ng/l ce qui correspond à la valeur basale de galanine plasmatique retrouvée dans la littérature chez l'humain (Bauer et al. 1986). À l'effort tout comme en récupération, nous n'avons pas obtenu de variations des concentrations de galanine plasmatique et ce, même si à l'effort nous avons observé une activation significative du système nerveux sympathique (Figures 8 et 9).

La concentration de glucose plasmatique (Figure 11) au repos est d'environ 5,5 mM ce qui correspond à une valeur usuelle de repos pour des sujets à jeun (Muller, 1985). Cette valeur n'a pas varié significativement pendant ou après l'exercice. La glycémie ne varie que très peu lors d'efforts sous-maximaux puisqu'elle est très bien maintenue par les mécanismes de glucorégulation décrits au chapitre 1.

La concentration d'insuline plasmatique (Figure 12) s'est avérée être assez basse au repos, soit de $87,20 \pm 21,66$ pM; les sujets étant à jeun depuis 12 heures. À l'exercice, nous n'avons pas observé la baisse attendue de la concentration plasmatique d'insuline. En post-exercice, une tendance à l'augmentation est observée mais n'est pas significative compte tenu de la grande variabilité entre les sujets. L'absence de variation à l'exercice pour les concentrations d'insuline est probablement due au fait que les sujets sont à jeun depuis 12 heures ce qui amène des valeurs basales plus basses (Galbo et al. 1979a). Les concentrations d'insuline sont déjà faibles et la grande variabilité entre les sujets ne nous permet pas de détecter de faibles variations.

Cette expérimentation chez l'humain ne nous a pas permis d'observer une libération de galanine à l'exercice. De plus, la concentration plasmatique d'insuline est aussi demeurée stable à l'effort. Sachant que, dans la littérature, la galanine est inversement liée à l'insuline, nous avons réalisé un second protocole chez l'humain, mais cette fois, avec un effort plus intense et des sujets à jeun de seulement 2 heures et donc, avec une insulïnémie plus élevée.

Exercice progressif maximal ($\dot{V}O_{2max}$)

Ce second protocole chez l'humain poursuivait le même but que le précédent soit d'évaluer la concentration plasmatique de galanine à l'effort. Mais cette fois, la durée de l'exercice fut plus courte, la charge plus importante et les sujets à jeun de seulement 2 heures. Nous avons donc réalisé le protocole d'exercice progressif maximal (ou $\dot{V}O_{2max}$) sur ergocycle comme décrit précédemment.

Comme pour le protocole précédent, les fréquences cardiaques ont augmenté à l'effort, à une valeur supérieure à 150 batt/min. La concentration des catécholamines (Figure 14) mesurée au repos se compare bien aux résultats présentés dans l'expérience précédente (Figure 9). À l'exercice (tout près du $\dot{V}O_{2max}$), les concentrations d'adrénaline et de noradrénaline étaient significativement plus élevées ($p < 0,05$) qu'au repos, indiquant une activation significative du système nerveux sympathique, tout comme pour le protocole précédent. Pour l'adrénaline, la concentration revient près des valeurs de repos 30 minutes suivant l'exercice. Toutefois, ce retour aux valeurs de repos est plus lent pour la noradrénaline. Après 30 minutes de récupération, la concentration

plasmatique est encore significativement plus élevée ($p < 0,05$) qu'au repos. Ces résultats des catécholamines et de la fréquence cardiaque nous indiquent que notre second protocole d'effort était aussi suffisamment intense pour provoquer l'activation significative du système nerveux sympathique.

La concentration de galanine plasmatique mesurée au repos est de $42,45 \pm 4,44$ ng/l (Figure 15). Cette valeur est comparable à ce que nous avons observé lors du protocole précédent. De la même façon, cette concentration n'a pas varié pour aucun temps pendant ou après l'exercice. La concentration tourne autour de la valeur basale obtenue, tout comme pour le protocole précédent. Donc, nous n'avons observé aucune variation de la galanine plasmatique et ce, même avec une activation significative du système sympathique et une baisse significative de la concentration plasmatique d'insuline. Il n'y a pas non plus de corrélation significative entre les faibles variations de la galanine plasmatique et les concentrations plasmatiques de noradrénaline, de glucose ou d'insuline.

La concentration de glucose plasmatique se situe autour de 6,65 mM au repos (Figure 16). Nous n'avons pas mesuré de variations significatives de sa concentration pendant l'effort ou près du $\dot{V}O_2$ max, ni pendant la période de récupération de 30 minutes. Par contre, l'insuline plasmatique (Figure 17) a diminué significativement ($p < 0,05$) pendant l'effort ou près du $\dot{V}O_2$ max, ce qui est conforme à la littérature pour ce type d'exercice. La baisse de l'insulinémie a donc permis le maintien de la glycémie pendant l'effort. Après l'exercice, la concentration montre une tendance au retour à la valeur de repos, qui est cependant très variable d'un sujet à l'autre.

Suite à l'analyse de ces résultats chez l'humain, nous en sommes venus à poser 2 hypothèses:

- la concentration plasmatique périphérique de galanine ne varie pas à l'exercice chez l'homme ou,
- nous ne pouvons pas déceler les variations de la libération de galanine par des prélèvements sanguins effectués en périphérie.

La galanine est un peptide qui peut être dégradé par le foie. On a donc supposé que si la concentration de galanine augmentait, le foie pourrait dégrader les surplus de galanine, ne laissant dans la circulation qu'une valeur basale d'environ 40 ng/l. De plus, on peut croire que la galanine possède un gradient porte-périphérie tout comme l'insuline ou le glucagon. Des variations déjà faibles au niveau portal seraient donc plus difficilement décelables en périphérie. Finalement, la demi-vie de la galanine s'avère très courte, soit de 1,5 à 2 minutes. Le délai entre la libération possible au niveau du pancréas et le prélèvement effectué en périphérie diminue nos chances d'observer des variations, si variations il y a. Pour contourner ces phénomènes, nous avons mis au point un troisième protocole.

Galanine et exercice chez le rat

Nous avons donc élaboré un protocole d'effort chez le rat dans le but de caractériser la libération de la galanine à l'exercice. Ce protocole chez l'animal nous a permis de prélever du sang de la veine porte, soit plus près du site de libération que sont les terminaisons nerveuses sympathiques au niveau des îlots de Langerhans du pancréas. Une partie du pancréas a aussi été prélevée de façon

à mesurer le contenu pancréatique en galanine, ce que ne permettait pas le protocole chez l'humain.

Chez l'animal, 6 groupes ont été établis selon le traitement reçu:

- Le groupe soluté où les rats, étudiés au repos ou à l'exercice, recevaient une solution de soluté physiologique en pré-exercice. Ce groupe fut étudié dans le but d'évaluer les différents paramètres en condition physiologique.
- Le groupe glucose qui a été réalisé dans le but de provoquer une hyperglycémie, stimuler les mécanismes de régulation de la glycémie et ainsi faciliter la libération de la galanine (Dunning, Karlsson et Ahrén, 1991; Gregersen et al., 1991; Lindskog et Ahrén, 1991). De cette façon, nous croyions accentuer la réponse de la galanine à l'exercice. Ce groupe fut lui-même réparti en deux sous-groupes:
 - Un sous-groupe pour lequel nous n'avons posé aucune restriction alimentaire (glucose *ad lib.*), le glucose administré venant donc s'ajouter à la glycémie normale pour provoquer l'hyperglycémie.
 - Le second sous-groupe où la nourriture était retirée 12 à 15 heures avant l'expérimentation (glucose à jeun). L'administration de glucose viendrait donc suppléer à une situation de jeûne.

On peut constater que l'exercice a été suffisamment intense pour stimuler significativement le système nerveux sympathique (Figure 18). Tous les prélèvements effectués dans la veine cave présentent des hausses significatives ($p < 0,05$) de la concentration plasmatique de noradrénaline suivant l'effort. Pour les prélèvements effectués dans la veine porte, le groupe glucose *ad lib.* présente

une hausse significative ($p < 0,05$) post-exercice alors qu'il y a une tendance à l'augmentation chez le groupe glucose à jeun.

Pour la galanine nous obtenons une augmentation de sa concentration plasmatique à l'exercice seulement pour la condition glucose *ad lib.* (Figure 19). Cette augmentation a été observée pour les 2 prélèvements effectués soit dans la veine porte soit dans la veine cave. Le groupe soluté et le groupe glucose à jeun n'ont présenté aucune augmentation de la concentration de galanine à l'exercice. Il semble donc que la galanine n'augmente à l'effort qu'en conditions hyperglycémiques.

Les résultats sur la galanine plasmatique sont cohérents avec les résultats concernant la noradrénaline, le glucose et l'insuline. Lorsque la concentration de noradrénaline a augmenté, la glycémie a augmenté, l'insuline a diminué (prélèvements dans la veine porte seulement) et la galanine a augmenté. De plus, un coefficient de corrélation linéaire de $r = 0,656$ ($p < 0,0001$; Annexe D) entre la galanine et le glucose, pour ce groupe glucose *ad lib.*, nous permet de croire que la galanine serait impliquée dans le contrôle de la glycémie à l'exercice, conjointement au système noradrénergique. Le groupe soluté a aussi présenté une corrélation faible mais significative ($r = 0,464$; $p < 0,05$) entre la galanine et le glucose.

Au repos, les concentrations de galanine étaient entre 9 et 30% plus élevées dans le plasma portal que dans celui de la veine cave, pour toutes les conditions. Après l'exercice, ces variations étaient de 20 et 25% pour les groupes soluté et glucose *ad lib.* On peut donc observer que le foie semble extraire une bonne partie de la galanine comme il le fait pour d'autres hormones.

La galanine posséderait donc un gradient porte-périphérie tel que proposé précédemment. Ce gradient pourrait faire partie des raisons pour lesquelles nous n'avons pas mesuré de variations de la concentration de galanine chez l'humain, les prélèvements ayant été faits en périphérie.

Le système gastro-intestinal du rat semble particulièrement riche en galanine. La galanine retrouvée dans le système gastro-intestinal est associée à des nerfs sympathiques (Ekblad et al 1985; Owyang et Louie, 1989). La galanine mesurée dans le plasma portal de nos rats hyperglycémiques peut provenir de l'activation sympathique de tous les organes situés avant le foie et irriguant la circulation portale. Le pancréas est un de ces organes mais il est difficile d'isoler sa contribution spécifique à l'augmentation de la concentration plasmatique de galanine suivant un exercice chez l'animal hyperglycémique. Il est connu que pendant un exercice l'activité nerveuse sympathique splanchnique est augmentée et mène à une vasoconstriction de ce lit vasculaire (McArdle, Katch et Katch, 1991). La libération de la galanine pourrait être un autre stimulus laquelle, conjointement au système nerveux sympathique, inhibe les fonctions digestives pendant l'exercice.

L'observation d'une augmentation de la concentration de galanine dans le plasma présuppose une augmentation de sa libération, entre autre par le pancréas. On pourrait donc s'attendre à une diminution de sa concentration dans cet organe. C'est ce qu'on décrit Dunning, Karlsson et Ahrén (1991) qui ont observé une diminution du contenu pancréatique en galanine chez des souris suite à un stress de nage de 6 minutes. Par contre, nos résultats démontrent une augmentation du contenu pancréatique en galanine suite à notre exercice de

nage de 30 minutes pour 2 de nos 3 conditions. Plusieurs différences méthodologiques existent entre les deux études. Premièrement, nos rats étaient soumis à trois sessions de nage avant l'expérimentation. Nous avons aussi ajusté la charge de travail par rapport au poids du rat alors qu'eux ont utilisé une charge absolue. La température de l'eau était aussi différente; nous avons utilisé une température de 37°C au lieu de la température ambiante. À ce sujet, il a été observé que pour des rats nageant 60 minutes dans l'eau, une température plus élevée (30°C vs 21°C) occasionnait un plus grand flux sympathique (Galbo et al. 1979b). De plus, des différences inter-espèces peuvent exister entre le rat et la souris. Nous n'avons pas d'idée précise sur la façon dont ces différences pourraient expliquer nos résultats divergents. Néanmoins, si on s'en tient à la différence dans le temps de nage (30 vs 6 min.), on peut intégrer les résultats de Dunning et coll. à nos résultats et croire qu'au début de l'exercice, la galanine serait libérée, diminuant sa quantité dans le pancréas. Puis, lorsque l'exercice est prolongé (30 minutes dans notre cas), il y aurait néosynthèse de galanine, ce qui permettrait la restauration des réserves en galanine dans la partie distale des terminaisons nerveuses sympathiques impliquées dans la libération.

Quant à la concentration de glucose plasmatique pour les différentes conditions expérimentales, nous n'avons observé d'augmentation appréciable à l'exercice que pour la condition glucose *ad lib*. (Figure 21). Il semble donc que l'administration de glucose, en plus de l'alimentation, ait été nécessaire pour obtenir une augmentation significative de la glycémie à l'exercice.

La concentration plasmatique d'insuline, pour sa part, n'a diminué significativement que pour le prélèvement fait dans la veine porte pour la

condition glucose *ad lib.* (Figure 22). Toutes les autres conditions ne présentent pas de variations significatives de la concentration d'insuline suivant l'exercice. Dans la littérature, les documents consultés concernant l'humain démontrent que l'insuline plasmatique retourne très rapidement (entre 2 et 5 minutes) près des valeurs de repos suivant l'exercice (Galbo, 1983; Wirth et al, 1981). Galbo fait mention d'une augmentation post-exercice rapide de la concentration plasmatique d'insuline. Ceci explique probablement nos résultats, nos prélèvements étant effectués dans l'espace d'environ 3 minutes suivant l'exercice.

CHAPITRE 5

CONCLUSION

A notre connaissance, les variations de la concentration de galanine plasmatique à l'effort n'avaient pas été étudiées avant cette étude.

Suite aux résultats obtenus, il paraît difficile de conclure en une relâche de galanine à l'exercice physique chez l'homme. Même si les approches utilisées, soit l'exercice sous-maximal de 30 minutes et l'effort progressif maximal ($\dot{V}O_2 \text{ max}$) ont activé significativement le système nerveux sympathique, nous n'avons pas été en mesure de démontrer une variation, à l'effort, de la concentration plasmatique de galanine par des prélèvements sanguins recueillis en périphérie. Notre projet pourrait par contre être complété par l'étude des variations dans des conditions d'hyperglycémie provoquée, conditions dans lesquelles nous avons observé des variations chez l'animal.

Chez le rat, les résultats obtenus nous permettent de croire qu'il y aurait augmentation de libération de la galanine suite à un exercice de 30 minutes. Nous avons, en effet, observé une augmentation de la concentration plasmatique en galanine pour des prélèvements effectués dans la veine porte et dans la veine cave chez des rats hyperglycémiques soumis à un exercice suffisamment intense pour accroître l'activité sympathique. Nous croyons que cette augmentation de la concentration de galanine provient de sa mise en circulation avant le foie puisque une plus grande quantité de galanine a été mesurée dans la circulation porte qu'en circulation périphérique. De plus, une quantité plus importante de

galanine a été mesurée dans des extraits pancréatiques de rats après l'exercice comparée à des rats repos, ce qui suggère une néosynthèse de la galanine pancréatique pendant l'exercice prolongé.

La galanine pourrait donc être impliquée dans la régulation de la sécrétion d'insuline à l'exercice puisque nous avons démontré, chez le rat, une augmentation quantitative dans le plasma suivant l'exercice. On pourrait donc formuler l'hypothèse que la galanine servirait de support au système noradrénergique dans la prévention d'une augmentation de la sécrétion de l'insuline durant l'hyperglycémie. En fait, nous avons observé une corrélation significative ($r = 0,656$) entre les concentrations plasmatiques du glucose et de la galanine. Des études ultérieures devront être effectuées pour déterminer si nous avons observé une véritable libération de la galanine ou si le résultat observé provient d'une diminution de sa dégradation.

En plus de l'exercice, la glycémie et le jeûne semblent influencer la réponse de la galanine puisque seulement le groupe *ad lib.* traité au glucose a démontré une augmentation de galanine en période post-exercice. Ces résultats ouvrent la porte à des études sur les états hyperglycémiques, notamment dans le diabète de type II, pathologie fortement liée à l'obésité. Des études complémentaires sur la galanine pourraient ajouter des éléments physiologiques à la compréhension de la pathologie et ainsi fournir des arguments à la prescription de l'activité physique comme faisant partie de la thérapeutique à utiliser.

RÉFÉRENCES

- Ahlborg, G. et Felig, P. (1982). Lactate and glucose exchange across the forearm, legs and splanchnic bed during and after prolonged leg exercise. *J. Clin. Invest.* **69**: 45-54.
- Ahrén, B. et Lindskog, S. (1992). Galanin and the regulation of islet hormone secretion. *Int. J. Pancreatol.* **11** (3): 147-160.
- Ahrén, B., Arkhammar, P., Berggren, P-O. et Nilsson, T. (1986). Galanin inhibits glucose-stimulated insulin release by a mechanism involving hyperpolarization and lowering of cytoplasmic free Ca^{2+} concentration. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **140**: 1059-1063.
- Ahrén, B., Berggren, P-O., Rorsman, P., Östenson, C-G. et Efendic, S. (1991). Neuropeptides in the regulation of islet hormone secretion - localization, effects and mode of action. *Adv. Exp. Med. Biol.* **291**: 129-142.
- Ahrén, B., Böttcher, G., Kowalyk, S., Dunning, B.E., Sundler, F. et Taborsky Jr., G.J. (1990). Galanin is co-localized with noradrenaline and neuropeptide Y in dog pancreas and celiac ganglion. *Cell Tissue Res.* **261**: 49-58.
- Bartfai, T., Fisone, G. et Langel, Ü. (1992). Galanin and galanin antagonists: molecular and biochemical perspectives. *TiPS* **13**: 312-317.
- Bauer, F.E., Hacker, H.W., Terenghi, G., Adrian, T.E., Polak, J.M. et Bloom, S.R. (1986). Localization and molecular forms of galanin in human adrenals: elevated levels in pheochromocytomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **63**: 1372-1378.

- Bersani, M., Johnsen, A.H., Højrup, P., Dunning, B.E., Andreasen, J.J. et Holst, J.J. (1991). Human galanin: primary structure and identification of two molecular forms. *FEBS Lett.* **283** (2): 189-194.
- Bloom, S.R., Johnson, R.H., Park, D.M., Rennie, M.J. et Sulaiman, W.R. (1976). Differences in the metabolic and hormonal response to exercise between racing cyclists and untrained individuals. *J. Physiol. (London)* **258**: 1-18.
- Brisson, G.R., Malaisse-Lagae, F. et Malaisse, W.J. (1971). Effect of phentolamine upon insulin secretion during exercise. *Diabetologia.* **7**: 223-226.
- Chan-Palay, V. (1988). Galanin hyperinnervates surviving neurons of the human basal nucleus of Meynert in dementias of Alzheimer's and Parkinson's disease: hypothesis for the role of galanin in accentuating cholinergic dysfunction in dementia. *J. Comp. Neurol.* **273**: 543-557.
- Drews, G., Debuyser, A., Nenquin, M. et Henquin, J.C. (1990). Galanin and epinephrine act on distinct receptors to inhibit insulin release by the same mechanisms including an increase in K⁺ permeability of the B-cell membrane. *Endocrinology.* **126**: 1646-1653.
- Dunning, B.E. et Taborsky Jr, G.J. (1988). Galanin-sympathetic neurotransmitter in endocrine pancreas? *Diabetes* **37**: 1157-1162.
- Dunning, B.E. et Taborsky Jr., G.J. (1989). Galanin release during pancreatic nerve stimulation is sufficient to influence islet function. *Am. J. Physiol.* **256**: E191-E198.
- Dunning, B.E. et Taborsky Jr., G.J. (1991). Neural control of islet function by norepinephrine and sympathetic neuropeptides. *Adv. Exp. Med. Biol.* **291**: 107-127.

- Dunning, B.E., Ahrén, B., Veith, R.C., Böttcher, G., Sundler, F. et Taborsky Jr., G.J. (1986). Galanin: a novel pancreatic neuropeptide. *Am. J. Physiol.* **251**: E127-E133.
- Dunning, B.E., Karlsson, S. et Ahrén, B. (1991). Contribution of galanin to stress-induced impairment of insulin secretion in swimming mice. *Acta Physiol. Scand.* **143**: 145-152.
- Ekblad, E., Rökaeus, A., Hakanson, R. et Sundler, F. (1985). Galanin nerve fibers in the rat gut: distribution, origin and projections. *Neurosciences* **16**: 355-363.
- Evans, H.F. et Shine, J. (1991). Human galanin: molecular cloning reveals a unique structure. *Endocrinology* **129** (3): 1682-1684.
- Galbo, H. *Hormonal and metabolic adaptation to exercise*, New York:Thieme-Stratton Inc., (1983). 116 pages.
- Galbo, H., Christensen, N.J. et Holst, J.J. (1977). Catecholamines and pancreatic hormones during autonomic blockade in exercising man. *Acta Physiol. Scand.* **101**: 428-437.
- Galbo, H., Holst, J.J. et Christensen, N.J. (1979a) The effect of different diets and of insulin on the hormonal response to prolonged exercise. *Acta Physiol. Scand.* **107**: 19-32.
- Galbo, H., Houston, M.E., Christensen, N.J., Holst, J.J., Nielsen, B., Nygaard, E. et Suzuki, J. (1979b) The effect of water temperature on the hormonal response to prolonged swimming. *Acta Physiol. Scand.* **105**: 326-332.
- Gallwitz, B., Schmidt, W.E., Schwarzhoff, R. et Creutzfeldt, W. (1990). Galanin: structural requirements for binding and signal transduction in RINm5F insulinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **172**: 268-275.

- Granner, D.K. (1989). Hormones du pancréas. Dans: *Harper, précis de biochimie*, Granner, D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K. and Rodwell, V.W. (eds) Québec/Paris: Les PUL/Éd. ESKA, p. 623-642.
- Gregersen, S., Hermansen, K., Yanaihara, N. et Ahrén, B. (1991). Galanin fragments and analogues: effects on glucose-stimulated insulin secretion from isolated rat islets. *Pancreas*. **6**: 216-220.
- Guyton, A.C. (1986) Insuline, glucagon et diabète sucré. dans: *Traité de physiologie médicale*, Paris: Doin, p. 943-957.
- Holst, J.J., Bersani, M., Knigge, U., Christiansen, E., Madsbad, S., Harling, H. et Kofod, H. (1993). On the effects of human galanin in man. *Diabetologia* **36**: 653-657.
- Järhult, J. et Holst, J. (1979). The role of the adrenergic innervation to the pancreatic islets in the control of insulin release during exercise in man. *Pflügers Arch.* **383**: 41-45.
- Kinderman, W., Schnabel, A., Schmitt, W.M., Biro, G., Cassens, I. et Weber, F. (1982). Catecholamines, growth hormone, cortisol, insulin, and sex hormones in anaerobic and aerobic exercise. *Eur. J. App. Physiol.* **49**: 389-399.
- Krzentowski, G., Pirnay, F., Pallikarakis, N., Luyckx, A.S., Lacroix, M., Morosa, F. et Lefèbvre, P.J. (1981). Glucose utilisation during exercise in normal and diabetic subjects, the role of insulin. *Diabetes* **30**: 983-989.
- Kuchel, O. (1991). Stress and catecholamines. Dans *Stress revisited. 1. Neuroendocrinology of stress. Methods Achieve Exp. Pathol.* Jasmin, G. et Cantin, M. (eds) Basel, Karger, **14**: 80-103.

Kurose, T., Seino, Y., Nishi, S., Tsuji, K., Taminato, T., Tsuda, K. et Imura, H. (1990). Mechanism of sympathetic neural regulation of insulin, somatostatin, and glucagon secretion. *Am. J. Physiol.* **258**: E220-E227.

Lagny-Pourmir, I., Amiranoff, B., Lorinet, A.M., Tatemoto, K. et Laburthe, M. (1989a). Characterization of galanin receptors in the insulin-secreting cell line Rin m 5F: evidence for coupling with a pertusis toxin-sensitive guanosine triphosphate regulatory protein. *Endocrinology* **124**: 2635-2641.

Lagny-Pourmir, I., Lorinet, A.M., Yanaihara, N. et Laburthe, M. (1989b). Structural requirements for galanin interaction with receptors from pancreatic beta cells and from brain tissue of the rat. *Peptides*. **10**: 757-761.

Levitt, N.S., Hirsch, L., Rubenstein, A.H. et Polonsky, K.S. (1993). Quantitative evaluation of the effects of low-intensity exercise on insulin secretion in man. *Metabolism* **42**: 829-833.

Lindskog, S. et Ahrén, B. (1991). Studies on the mechanism by which galanin inhibits insulin secretion in islets. *Eur. J. Pharmacol.* **205**: 21-27.

Lindskog, S., Ahrén, B., Dunning, B.E. et Sundler, F. (1991). Galanin-immunoreactive nerves in the mouse and rat pancreas. *Cell Tissue Res.* **264**: 363-368.

Lindskog, S., Dunning, B.E., Mårtensson, H., Ar'rajab, A., Taborsky Jr., G.J. et Ahrén, B. (1990). Galanin of the homologous species inhibits insulin secretion in the rat and in the pig. *Acta Physiol. Scand.* **139**: 591-596.

Marliss, E.B., Simantirakis, E., Miles, P.D.G., Purdon, C., Gougeon, R., Field, C.J., Halter, J.B. et Vranic, M. (1991). Glucoregulatory and hormonal responses to repeated bouts of intense exercise in normal male subjects. *J. Appl. Physiol.* **71** (3): 924-933.

- McArdle, W., Katch, F.I. et Katch, V.L. (1991). *Exercise physiology: energy, nutrition, and human performance*. Philadelphia/London: Lea&Febiger, 3rd ed., 853 pages.
- McDonald, T.J., Dupré, J., Tatemoto, K., Greenberg, G.R., Radziuk, J. et Mutt, V. (1985). Galanin inhibits insulin secretion and induces hyperglycemia in dogs. *Diabetes*, **34**: 192-196
- McDonald, T.J., Brooks, B.D., Rökaeus, A., Tinner, B. et Staines, W.A. (1992). Pancreatic galanin: molecular forms and anatomical locations. *Pancreas*, **7** (6): 624-635.
- McDonald, T.J., Tu, E., Brenner, S., Zabel, P., Behme, M., Panchal, C., Hramiak, I., Barnett, W.B., Miller, D. et Dupré, J. (1994). Canine, human, and rat plasma insulin responses to galanin administration: species response differences. *Am. J. Physiol.* **266**: E612-E617.
- McKnight, G.L., Karlsen, A.E., Kowalyk, S., Mathewes, S.L., Sheppard, P.O., O'Hara, P.J. et Taborsky Jr., G.J. (1992). Sequence of human galanin and its inhibition of glucose-stimulated insulin secretion from RIN cells. *Diabetes*, **41**: 82-87.
- Miller, R.E. (1981). Pancreatic neuroendocrinology: peripheral neural mechanisms in the regulation of the islets of Langerhans. *Endocrine Reviews*. **2**: 471-494.
- Miralles, P., Peiró, E., Dégano, P., Silvestre, R.A. et Marco, J. (1990). Inhibition of insulin and somatostatin secretion and stimulation of glucagon release by homologous galanin in perfused rat pancreas. *Diabetes*, **39**: 996-1001.

- Muller, C. (1985). *Les examens de laboratoire: prélèvements, résultats normaux et pathologiques, épreuves fonctionnelles*. 7e édition, Paris: Maloine, 263 pages.
- Nilsson, T., Arkhammar, P., Rorsman, P. et Berggren, P-O. (1989). Suppression of insulin release by galanin and somatostatin is mediated by a G-protein; an effect involving repolarization and reduction in cytoplasmic free Ca^{2+} concentration. *J. Biol. Chem.* **264**: 973-980.
- Owyang, C. et Louie, D. (1989). Newly discovered gut peptides. Dans: *Handbook of physiology, Section 6; The gastrointestinal system*, Schultz, S.G., Rauner, G.M. et Rauner, B.B., (eds). Bethesda, Maryland: American Physiological Society, p. 671-702.
- Petersen, O.H. (1990). Control of insulin secretion in pancreatic β -cells. *NIPS* **5**: 254-258.
- Portha, B. (1991). Physiologie de la cellule β des îlots de Langerhans. *M/S*, **7**: 212-225.
- Rökæus, A. (1987). Galanin: a newly isolated biologically active neuropeptide. *Trends Neurosci.* **10**: 158-164.
- Schnuerer, E.M., McDonald, T.J. et Dupre, J. (1987). Inhibition of insulin release by galanin and gastrin-releasing peptide in the anesthetized rat. *Regul. Pept.* **18**: 307-320.
- Shimosegawa, T., Moriizumi, S., Koizumi, M., Kashimura, J., Yanaihara, N. et Toyota, T. (1992). Immunohistochemical demonstration of galanin-like immunoreactive nerves in the human pancreas. *Gastroenterology*, **102**: 263-271.

- Sutter, B.CH.J. (1982). Régulation hormonale de la sécrétion de l'insuline. *J. Physiol.* **78**: 119-130.
- Tatemoto, K. (1991). Novel peptides and islet function. Dans: *Fuel homeostasis and the nervous system*, Vranic et al. (eds). Plenum Press, New-York, p. 89-98
- Tatemoto, K., Rökaeus, Å., Jörnvall, H., McDonald, T.J. et Mutt, V. (1983). Galanin-a novel biologically active peptide from porcine intestine. *FEBS Lett.* **164** (1): 124-128.
- Terjung, R. (1979). Endocrine response to exercise. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, **7**: 153-180.
- Thomas, S., Reading, J. et Shephard, R.J. (1992). Revision of the physical activity readiness questionnaire (Par-Q). *Can. J. Spt. Sci.* **17** (4): 338-345.
- Ullrich, S. et Wollheim, C.B. (1989). Galanin inhibits insulin secretion by direct interference with exocytosis. *FEBS Lett.* **247**: 401-404.
- Wirth, A., Diehm, C., Mayer, H., Mörl, H., Vogel, I., Björntorp, P. et Schlierf, G. (1981). Plasma C-peptide and insulin in trained and untrained subjects. *J. Appl. Physiol.* **50**: 71-77.
- Yamaguchi, N. (1992). Sympathoadrenal system in neuroendocrine control of glucose: mechanisms involved in the liver, pancreas, and adrenal gland under hemorrhagic and hypoglycemic stress. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **70**: 167-206.

Annexe A

Formulaires de consentement,

Protocole sous-max. de 60 minutes et $\dot{V}O_2\text{max}$

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT
RÉPONSE HORMONALE À L'EXERCICE

Comme sujet de cette étude vous aurez à:

1- Dans un premier temps, effectuer un test maximal à l'exercice sur ergocycle ($\dot{V}O_2\text{max}$). Ce test consiste à pédaler avec des charges de plus en plus élevées jusqu'à ce que vous atteigniez votre fréquence cardiaque maximale ($220 - \text{âge}$) et votre consommation d'oxygène maximale. *Prévoir environ 30 à 45 minutes pour l'expérimentation.

2- Une semaine plus tard, vous devrez réaliser un exercice de 60 minutes sur ergocycle avec charge fixe obtenue à 58% de votre $\dot{V}O_2\text{max}$. Des échantillons sanguins seront prélevés par une infirmière diplômée. Le sang ainsi récolté sera ensuite centrifugé et le plasma congelé pour des analyses ultérieures. *Prévoir 1h30 à 1h45 pour l'expérimentation.

** Nous vous demandons d'informer les chercheurs de toute douleur, inconfort, fatigue ou autre symptôme que vous jugerez pertinent de mentionner avant, pendant ou après l'expérimentation.

** La procédure peut être suspendue en tout temps si vous le désirez ou si les chercheurs observent un critère d'arrêt.

** Vous avez le droit de poser toutes questions ou interrogations concernant le protocole et les résultats. Vous êtes en droit d'obtenir une réponse satisfaisante.

** Certains risques potentiels existent: étourdissements, évanouissement, pression artérielle anormale, crampes et/ou nausées.

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous devez le faire de façon libre et consentante.

_____ Tel.: _____

Signature / date

Pour toutes informations concernant ce projet, veuillez communiquer avec M. François Trudeau au (819) 376-5128 poste 3796. Vous pouvez aussi obtenir de l'information au laboratoire de physiologie poste 3778.

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT**ÉPREUVE DU $\dot{V}O_2$ max**

Comme sujet de cette étude vous aurez à:

Effectuer un test maximal à l'exercice sur ergocycle ($\dot{V}O_2$ max). Ce test consiste à pédaler avec des charges de plus en plus élevées jusqu'à ce que vous atteigniez votre fréquence cardiaque maximale ($220 - \text{âge}$) et votre consommation d'oxygène maximale. Des échantillons sanguins seront prélevés par une infirmière diplômée. Le sang ainsi recolté sera ensuite centrifugé et le plasma congelé pour des analyses ultérieures.

*Prévoir environ 30 à 45 minutes pour l'expérimentation.

- ** Nous vous demandons d'informer les chercheurs de toute douleur, inconfort, fatigue ou autre symptôme que vous jugerez pertinent de mentionner avant, pendant ou après l'expérimentation.
- ** La procédure peut être suspendue en tout temps si vous le désirez ou si les chercheurs observent un critère d'arrêt.
- ** Vous avez le droit de poser toutes questions ou interrogations concernant le protocole et les résultats. Vous êtes en droit d'obtenir une réponse satisfaisante.
- ** Certains risques potentiels existent: étourdissements, évanouissement, pression artérielle anormale, crampes et/ou nausées.

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous devez le faire de façon libre et consentante.

_____ Tel.: _____

Signature / date

Pour toutes informations concernant ce projet, veuillez communiquer avec M. François Trudeau au (819) 376-5128 poste 3796. Vous pouvez aussi obtenir de l'information au laboratoire de physiologie poste 3778.

Annexe B

Formulaire Q-AAP révisé

QAAP REVISÉ

NOM: _____

DATE: _____

	OUI	NON
1. Est-ce qu'un médecin vous a déjà dit que vous aviez une maladie cardiaque, et vous a recommandé de ne pas faire d'exercice sans supervision médicale?	☐	☐
2. Avez-vous des douleurs dans la poitrine lorsque vous faites de l'exercice?	☐	☐
3. Avez-vous eu des douleurs dans la poitrine au repos, au cours du dernier mois?	☐	☐
4. Est-ce qu'il vous arrive quelquefois de perdre conscience ou de tomber parce que vous êtes étourdi?	☐	☐
5. Avez-vous des problèmes osseux ou articulaires qui pourraient être aggravés si vous faisiez de l'exercice?	☐	☐
6. Est-ce qu'un médecin vous a déjà prescrit des médicaments pour contrôler votre pression artérielle ou un problème cardiaque?	☐	☐
7. Selon votre propre expérience ou selon l'avis d'un médecin, existe-t-il d'autres raisons pour lesquelles vous ne devez pas faire d'exercice sans supervision médicale?	☐	☐

Note. Si vous avez une maladie bénigne temporaire comme par exemple la grippe, ou si vous ne vous sentez pas bien en ce moment...remettez à plus tard votre évaluation.

INSTRUCTIONS SUPPLÉMENTAIRES

À utiliser si la personne a répondu oui aux questions 1,5, ou 6

	OUI	NON
1. Avez-vous déjà eu une opération au coeur ou une crise cardiaque?	☐	☐
Si la réponse est oui, consulter un médecin.		
5. Est-ce que vous avez de la difficulté à monter et à descendre des escaliers?	☐	☐
Si la réponse est oui, consulter un médecin		
6. a) Est-ce que vous prenez des médicaments pour une maladie cardiaque?	☐	☐
Si la réponse est oui, consulter un médecin		
b) Avez-vous déjà pris des médicaments pour la pression artérielle?	☐	☐
Si la réponse est oui, consulter un médecin. Si la réponse est non, poursuivre le dépistage (incluant la mesure de la pression artérielle)		

Si la participante est enceinte, elle devrait demander l'avis d'un médecin ou remettre à plus tard l'évaluation

Annexe C

Protocole utilisé pour le $\dot{V}O_{2\max}$

Tableau 2. Protocole utilisé pour la réalisation du $\dot{V}O_2$ max.

Palier #	Temps (minutes)	Watts	Prélèvements
repos	0-20	---	repos
échauffement	0-2	40	
1	2-4	80	
2	4-6	120	6 minutes
3	6-8	160	
4	8-10	200	10 minutes
5	10-12	240	
6	12-14	280	
7	14-16	320	
8	16-18	360	
recupération	0-1	---	post-exerc.
	1-30	---	30 min post-exerc.

Annexe D

Exemples d'analyses statistiques

Type III Sums of Squares

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value
etat	5	833,445	166,689	2,865	,0255
Residual	43	2502,014	58,186		

Dependent: Galanine pancréatique

Means Table

Effect: etat

Dependent: Galanine pancréatique

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
rep sal	7	25,411	2,444	,924
ex sal	7	35,723	14,404	5,444
rep glu ad lib	13	23,366	4,719	1,309
ex glu ad lib	12	30,686	8,011	2,313
rep glu ajeun	5	27,164	7,306	3,267
ex glu ajeun	5	28,274	2,943	1,316

Least Squares Means Table

Effect: etat

Dependent: Galanine pancréatique

	Vs.	Diff.	Std. Error	t-Test	P-Value
rep sal	ex sal	-10,311	4,077	-2,529	,0152
	rep glu ad lib	2,045	3,576	,572	,5703
	ex glu ad lib	-5,274	3,628	-1,454	,1532
	rep glu ajeun	-1,753	4,466	-,392	,6967
	ex glu ajeun	-2,863	4,466	-,641	,5250
ex sal	rep glu ad lib	12,357	3,576	3,455	,0012
	ex glu ad lib	5,037	3,628	1,388	,1722
	rep glu ajeun	8,559	4,466	1,916	,0620
	ex glu ajeun	7,449	4,466	1,668	,1026
rep glu ad lib	ex glu ad lib	-7,320	3,054	-2,397	,0209
	rep glu ajeun	-3,798	4,014	-,946	,3494
	ex glu ajeun	-4,908	4,014	-1,223	,2281
ex glu ad lib	rep glu ajeun	3,522	4,060	,867	,3905
	ex glu ajeun	2,412	4,060	,594	,5556
rep glu ajeun	ex glu ajeun	-1,110	4,824	-,230	,8191

Fisher's Protected LSD

Effect: etat

Dependent: Galanine pancréatique

Significance level: ,05

	1	2	3	4	5	6
1. rep glu ad lib	-					
2. rep sal	-	-				
3. rep glu ajeun	-	-	-			
4. ex glu ajeun	-	-	-	-		
5. ex glu ad lib	S	-	-	-	-	
6. ex sal	S	S	-	-	-	-

S = Significantly different at this level.

Simple Regression X_1 : Galanine Y_1 : Glucose

Count:	R:	R-squared:	Adj. R-squared:	RMS Residual:
50	,656	,431	,419	3,393

Analysis of Variance Table

Source	DF:	Sum Squares:	Mean Square:	F-test:
REGRESSION	1	418,327	418,327	36,34
RESIDUAL	48	552,558	11,512	p = ,0001
TOTAL	49	970,885		

No Residual Statistics Computed

Simple Regression X_1 : Galanine Y_1 : Glucose

Beta Coefficient Table

Variable:	Coefficient:	Std. Err.:	Std. Coeff.:	t-Value:	Probability:
INTERCEPT	7,794				
SLOPE	,09	,015	,656	6,028	,0001

Confidence Intervals Table

Variable:	95% Lower:	95% Upper:	95% Lower:	95% Upper:
MEAN (X,Y)	9,623	11,553	9,623	11,553
SLOPE	,06	,121	,06	,121

