

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ACTIVITÉ PHYSIQUE**

**PAR
ANIS CHAOUACHI**

**SUIVI DE LA COMPARTIMENTATION DU GLYCOGÈNE LORS DE LA
GLYCOGÉNOLYSE INDUITE PAR LE JEÛNE ET L'EXERCICE**

SEPTEMBRE 2004

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

RÉSUMÉ

L'objectif de ce projet était de documenter l'effet de différentes durées de jeûne et d'exercice sur la distribution relative du glycogène dans les desmoglycosomes et les lyoglycosomes hépatiques et musculaires. Un deuxième objectif était de quantifier la contribution relative du glycogène contenu dans ces deux fractions à la glycogénolyse. Des rats mâles Sprague-Dawely ont été aléatoirement assignés à sept groupes de sept rats chacun : trois groupes jeûne, trois groupes exercice et enfin un groupe contrôle. Le groupe contrôle a été nourri *ad libitum* et maintenu au repos. Les groupes jeûne (J6 H, J12 H et J24 H) ont été privés de nourriture respectivement pour une période de 6, 12 et 24 heures. Enfin les groupes exercice (Ex 45 min, Ex 90 min et Ex 180 min) ont été soumis à un exercice de nage d'une durée de 45 min, 90 min et 180 min respectivement. Au moment des sacrifices, les foies et les muscles rectus femoris ont été prélevés et le contenu total en glycogène, ainsi que le contenu total de glycogène associé aux desmoglycosomes (glycosomes résistant au traitement à l'acide) et aux lyoglycosomes (glycosomes non résistant au traitement à l'acide) ont été mesurés. Dans le foie et le muscle, l'exercice et le jeûne provoquaient une déplétion sévère ($P < 0,05$) du glycogène total et ce proportionnellement à la durée du jeûne et de l'exercice. Par ailleurs, le glycogène contenu dans les deux glycosomes diminuait ($P < 0,05$) avec le jeûne et l'exercice dans le foie et le muscle. Avec le jeûne ou l'exercice, l'utilisation du glycogène des lyoglycosomes dominait dans le foie. Au contraire, dans le muscle l'utilisation du glycogène des desmoglycosomes s'avérait plus importante. La répartition

du glycogène entre les fractions desmoglycosomes et lyoglycosomes était de 40% et 60% dans le foie et de 75% et 25 % dans le muscle chez le groupe contrôle. Cette répartition du glycogène entre les glycosomes change avec la durée du jeûne et de l'exercice et ce dans les deux tissus. Dans le foie, plus de glycogène associé aux desmoglycosomes suite à l'exercice d'une durée de 90 min (60 : 40, $P < 0,05$), 180 min (75 : 25, $P < 0,05$) et suite au jeûne de 24H (75 : 25, $P < 0,05$) a été observé. Dans le muscle, le glycogène se répartit plus dans la fraction lyoglycosome suite au jeûne de 24H (57 : 43, $P < 0,05$) et l'exercice d'une durée de 180 min (100 : 00, $P < 0,05$). Ces résultats montrent que l'exercice et le jeûne modifient la répartition intracellulaire du glycogène dans les deux glycosomes et que l'utilisation du glycogène des desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques et musculaires est hétérogène. L'implication physiologique de cette compartimentation et les mécanismes qui sous-tendent cette répartition avec le jeûne et l'exercice restent à être investigués.

Mots clés : glycogène hépatique, glycogène musculaire, lyoglycosome, desmoglycosome, compartimentation, glycogénolyse.

REMERCIEMENTS

Un travail scientifique ne s'effectuant jamais en solitaire, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce projet, ainsi que tous ceux qui m'ont soutenu, inspiré, stimulé et fait confiance.

À ma directrice de recherche, Dr Carole Lavoie, pour tout le temps consacré à mon mémoire. Sa rigueur scientifique, ses hautes compétences, sa passion pour la recherche, ses conseils précieux et ses suggestions m'ont été des plus utiles pour élaborer ce travail. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma profonde gratitude.

À mon professeur et directeur de programme Monsieur Louis Laurencelle, pour l'aide qu'il m'a apportée durant ces deux années d'études en matière de recherche en sciences de l'activité physique. Veuillez trouver l'expression de ma reconnaissance pour la gentillesse dont vous avez toujours fait preuve à mon égard.

Un grand merci à mes collègues de laboratoire, en particulier, Alexandre, Elaine et Claire, pour leur précieuse aide.

À mes parents, mon frère, mes sœurs et toute ma famille qui étaient continuellement présents à mes côtés et m'ont toujours soutenu dans mon cheminement académique et personnel pour me rendre jusqu'ici. Qu'ils trouvent ici le fruit de tous les sacrifices qu'ils ont consenti.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à l'Agence Canadienne de Développement International qui m'a donné l'occasion d'avoir une formation au sein d'une institution

canadienne. Également, je remercie tout le personnel du Programme Canadien de Bourses de la Francophonie pour les efforts consentis à ce noble travail. En particulier, je cite Monsieur Yves Galipeau, coordonnateur du programme, et Madame Elise Tousignant, ma conseillère pédagogique. Je veux leur exprimer mon profond respect.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	i
REMERCIEMENTS	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
I REVUE DE LA LITTÉRATURE	1
Introduction.....	1
Hétérogénéité du glycogène.....	5
Modèles de compartimentation du glycogène	6
Les glycosomes.....	10
Études biochimiques.....	11
Association enzymes - glycogène.....	11
Association protéines - protéines.....	11
Études au microscope électronique.....	14
Association enzymes - glycogène.....	14
Association glycosomes – composantes cellulaires.....	15
Lyoglycosomes et desmoglycosomes : données hépatiques et musculaires.....	17
Synthèse du glycogène : nouveaux concepts	20
Glycogénine	22
Proglycogène et macroglycogène	23
II PROBLÉMATIQUE	28
III MÉTHODOLOGIE.....	29

Modèle expérimental.....	29
Jeûne	30
Exercice.....	31
Analyses.....	32
Compartimentation et glycogène	32
Métabolites et hormones pancréatiques	33
Glucose	33
Lactate.....	34
Insuline.....	34
Glucagon.....	34
Analyse des données	35
Statistiques	35
IV RÉSULTATS.....	39
Données descriptives.....	39
Poids corporel	39
Consommation de la nourriture	39
Métabolites et hormones.....	41
Glucose	41
Lactate.....	42
Insuline et Glucagon	42
Glycogène	43
Glycogène total	43

Glycogène associé aux desmoglycosomes et lyoglycosomes.....	48
Rapport desmoglycosomes / lyoglycosomes	54
V DISCUSSION	58
CONCLUSION.....	73
PERSPECTIVES D'AVENIR	74
RÉFÉRENCES.....	75

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	page
1. Paramètres structuraux de la particule de glycogène	4
2. Effets du jeûne sur le poids corporel.....	40
3. Consommation de nourriture par cycle de 6 heures et par 24 heures.	40
4. Consommation de nourriture chez les groupes de jeûne.....	41
5. Données métaboliques : groupes jeûne	45
6. Données métaboliques : groupes exercice	45
7. Effets du jeûne sur les concentrations de glycogène hépatique et musculaire totales et associées aux desmoglycosomes et aux lyoglycosomes.....	46
8. Effets de l'exercice sur les concentrations de glycogène hépatique et musculaire totales et associées aux desmoglycosomes et aux lyoglycosomes.....	47
9. Contribution de chaque fraction à la glycogénolyse totale (ΔG_t) durant les trois périodes de jeûne.....	53
10. Contribution de chaque fraction à la glycogénolyse totale (ΔG_t) durant les trois durées d'exercice.....	53

LISTE DES FIGURES

Figures	page
1. Structure du glycogène.....	4
2. Modèle théorique de la granule de glycogène et son association avec des protéines.....	13
3. Lyoglycosome et desmoglycosome.	13
4. Modèle de synthèse du glycogène	21
5. Synthèse et dégradation du glycogène via le proglycogène.....	24
6. Arrangement des glycosomes	27
7. Protocole expérimental des groupes jeûne.....	37
8. Protocole expérimental des groupes exercice	38
9. Effets de trois durées d'exercice (45, 90 et 180 min) sur les concentrations totales de glycogène musculaire et hépatique	50
10. Effets de trois périodes de jeûne (6, 12 et 24H) sur les concentrations totales de glycogène musculaire et hépatique	50
11-A. Effets de trois périodes de jeûne (6, 12 et 24H) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires	51
11-B. Effets de trois périodes de jeûne (6, 12 et 24H) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques	51

12-A. Effets de trois durées d'exercice (45, 90 et 180 min) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires	52
12-B. Effets de trois durées d'exercice (45, 90 et 180 min) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques	52
13-A. Effets du jeûne sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires.....	56
13-B. Effets du jeûne sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques.....	56
14-A. Effets de l'exercice sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires	57
14-B. Effets de l'exercice sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques	57

CHAPITRE I

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Introduction

Le glycogène représente la réserve intracellulaire du glucose. Depuis sa découverte dans le foie par Claude Bernard (Bernard, 1957), la compréhension de ce polysaccharide ne cesse d'évoluer. Depuis quelques années, de nouveaux concepts de compartimentation et de structure ont émergé dans la littérature scientifique et raffinent nos connaissances du métabolisme du glycogène. Les nouveaux concepts réfèrent entre autres à la complexité de la structure moléculaire et de la situation intracellulaire, ajoutant un aspect qualitatif à l'aspect quantitatif bien connu du glycogène. L'application de ces derniers concepts a reçu une attention particulière depuis les cinq dernières années. L'information rend compte d'une localisation intracellulaire hétérogène du glycogène et les dernières données suggèrent que ces localisations représentent deux fractions métaboliques distinctes contenant du glycogène (Marchand et al., 2002; Rybicka, 1996; Roach, 2002).

Le glycogène est une molécule complexe formée de plusieurs unités glycosyl individuelles rattachées, de façon très organisée, les unes aux autres. Mis en réserve, principalement dans le foie et les muscles squelettiques, il peut être utilisé afin de fournir rapidement l'énergie nécessaire à l'organisme en libérant ses unités glycosyl en réponse aux diverses situations physiologiques. Une particule mature de glycogène dans

le muscle des mammifères, nommée particule β , a un poids (M_r) $\sim 10^7$ et peut être visualisée par microscope électronique (pour une revue voir Rybicka, 1996). Dans le foie, la particule de glycogène (particule α) a un poids plus élevé $M_r \sim 10^8$ à 10^9 (Chee et Geddes, 1977; Drochmans, 1962; Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et Stratton, 1977b). La localisation intracellulaire du glycogène est cytosolique malgré que certaines études le localisent à proximité des membranes (Babcock et Cardell, 1975; Cardell, Micheals, Huang et Cardell, 1985). Le glycogène est aussi présent dans les lysosomes des cellules chez les mammifères (Calder et Geddes, 1989; Geddes, Harvey et Wills, 1977; Geddes, Otter, Scott et Taylor, 1983; Geddes, 1986; Geddes et Stratton, 1977b; Geddes et Tylor, 1985a; Geddes et Tylor, 1985b), atteignant 10% dans les hépatocytes normaux des mammifères (Geddes et al., 1977; Geddes, 1986). Cette localisation intracellulaire différente du glycogène provient des différences remarquées au niveau de la taille, de la structure et au niveau de l'incorporation de précurseurs radioactifs du glycogène (Ching, Geddes et Sally, 1985; Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et al., 1983; Geddes et Taylor, 1985a; Geddes et Tylor, 1985b). Ces travaux ont donné naissance au concept de compartimentation du glycogène hépatique et musculaire et ont été à la base de la description des fractions de glycogène (Roach, 2002).

L'efficacité métabolique du glycogène repose sur sa structure ramifiée (nombre et arrangements des points de ramification), lui permettant d'emmagasiner une très grande quantité d'énergie dans le moins d'espace possible (Meléndez-Hevia, Wandell et Shelton, 1993; Meléndez-Hevia, Wandell, Rapozo et Lupianez, 1995; Meléndez,

Meléndez-Hévia et Cascante, 1997; Meléndez, Meléndez-Hévia, Mas, Mach et Cascante, 1998; Meléndez, Meléndez-Hévia, et Canela, 1999). Cette structure hautement branchée lui permet de libérer rapidement un grand nombre d'unités glycosyl. Basés sur les données des études biochimiques, plusieurs modèles de structure du glycogène ont été proposés dans la littérature et continuent à être affinés. Le modèle qui a été largement accepté et raffiné pour la structure du glycogène est celui de Whelan et collaborateurs (Bullivant, Geddes et Willis, 1983; Goldsmith, Sprang et Fletterick, 1982; Gunja-Smith, Marshall et Smith, 1971; Miller, 1978). Le glycogène, selon ce modèle (figure 1), a une structure sphérique régulière organisée en niveaux concentriques autour d'un noyau central. Il y a un nombre égal de chaînes A (chaînes qui ne portent aucune autre chaîne) et de chaînes B (qui portent d'autres chaînes). Toutes les chaînes A et B ont une longueur uniforme (Goldsmith et al., 1982). Les caractéristiques des paramètres structuraux de la molécule sont présentées dans le tableau 1. Cette conception optimale avec un degré de branchement égal à deux, une longueur de chaîne équivalente à 13 et avec un maximum de niveaux égal à 12 permet une mise en réserve efficace de l'énergie de la molécule. Elle permet aussi de libérer rapidement du glucose afin de répondre aux différentes situations physiologiques (Meléndez-Hévia et al., 1993; Meléndez-Hévia et al., 1995; Meléndez et al., 1997; Meléndez et al., 1998; Meléndez et al., 1999).

Tableau 1

Paramètres structuraux de la particule de glycogène, rapportés selon Goldsmith et al., 1982.

Poids moléculaire	10^7 Da
Nombre de niveaux total	12
Nombre de résidus glucose total	55000
Longueur moyenne de la chaîne	13 résidus glucose
Longueur effective par niveau	1.9 nm x 2 ~ 3.8 nm
Diamètre total de la particule	~ 40 nm
Nombre de terminaisons non réductrices	2100

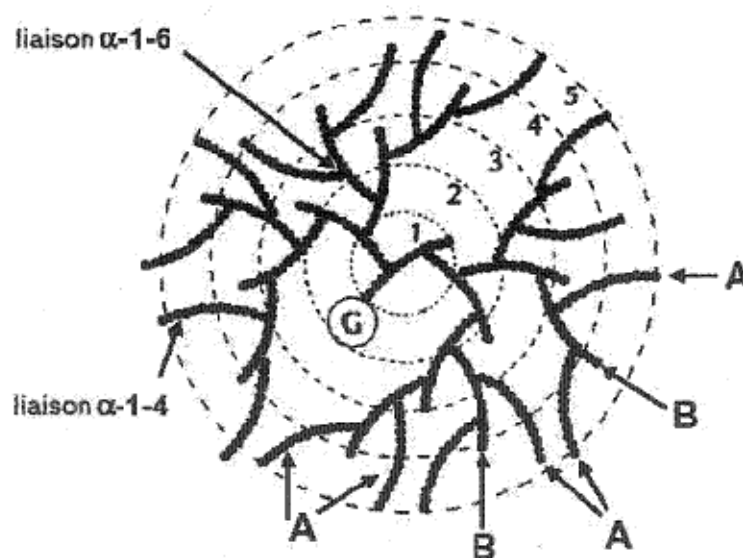


Figure 1. Structure du glycogène selon le modèle de Whelan (Adaptée de Meléndez et al., 1999).

Hétérogénéité du glycogène

Les études biochimiques et de microscopie électronique ont bien établi que le glycogène est métaboliquement et structurellement hétérogène dans le foie (Calder et Geddes, 1983; Chee et Geddes, 1977; Devos et Hers, 1980; Geddes, 1971; Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et Stratton, 1977b; Geddes et al., 1977; Geddes et al., 1983; Harvey, Geddes et Wills, 1979; Stetten et Stetten, 1954; Stetten et Stetten, 1955) et les muscles squelettique et cardiaque (Chee, Geddes et Wills, 1983; Calder et Geddes, 1985). Cette hétérogénéité intracellulaire, extracellulaire et moléculaire a été démontrée par plusieurs équipes. Selon les travaux des différentes équipes, l'hétérogénéité du glycogène dans les tissus a été rapportée selon le poids moléculaire (Geddes, 1971; Geddes et al., 1977; Stetten et Stetten, 1955); la taille moléculaire (Geddes, 1971; Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et Stratton, 1977b); le type du tissu (Chee et Geddes, 1977; Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et Stratton, 1977b); la structure moléculaire par rapport au contenu protéique (Calder et Geddes, 1983; Chee et Geddes, 1977; Ching et al., 1985; Geddes, 1971; Geddes et Stratton, 1977a; Stetten et Stetten, 1954; Stetten et Stetten, 1955; Tarentino et Maley, 1976) et enfin la localisation intracellulaire (Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et Stratton, 1977b; Geddes et al., 1983; Geddes et al., 1977). Parmi tous les travaux disponibles sur l'hétérogénéité du glycogène, l'attention du présent projet portera sur le concept de compartimentation du glycogène hépatique et musculaire (Roach, Skurat et Harris, 2001; Roach, 2002; Rybicka, 1996).

Modèles de compartimentation du glycogène

Il existe quatre types de compartimentation reposant sur la technique de différenciation employée. La distinction des différentes fractions contenant du glycogène a été faite selon : a) la solubilité à l'acide (Jansson, 1981; Willstätter et Rohdewald, 1934), b) le poids moléculaire (Calder et Geddes, 1989; Calder et Geddes, 1992; Cartee et Farrar, 1988; Goforth et al., 1997), c) le ratio protéines/unités glycosyl (Kennedey et al., 1985) et enfin, d) la composition protéique des glycosomes (Rybicka, 1979a; Rybicka, 1979b). Nous présenterons les principaux travaux relatifs à la notion de compartimentation.

En 1886, Külz a montré que les tissus contiennent deux sortes de glycogène qui diffèrent selon la facilité d'extraction. Une fraction peut être extraite par l'eau chaude et une autre part plus petite non extractible. Willstätter et Rohdewald (1934) ont désigné ces deux fractions sous les noms de glycogène libre ou lyoglycogène (fraction soluble à l'acide trichloroacétique) et de glycogène lié aux protéines ou desmoglycogène (fraction insoluble à l'acide trichloroacétique). Ils ont attribué cette moindre solubilité du desmoglycogène à sa combinaison avec des protéines (Willstätter et Rohdewald, 1934). D'autres auteurs ont référé à la fraction desmoglycogène en tant que glycogène résiduel (Setten et Stetten, 1960). D'autres ont également avancé que le desmoglycogène n'existe pas, mais correspondrait à des impuretés (Meyer et Lourau, 1956; Stetten et Stetten, 1951) ou attribuaient la séparation par cette méthode à un simple artéfact. Ces

contradictions au sujet de la présence des deux fractions ont ralenti l'avancement de la recherche dans ce sujet après la découverte initiale.

En étudiant la synthèse du glycogène hépatique par l'incorporation de glucose marqué au ^{14}C chez des lapins nourris suite à une période de jeûne, Geddes et Stratton (1977) ont observé que la synthèse s'avérait hétérogène. Il existe selon cette équipe deux voies différentes mais coexistantes pour la formation de glycogène : la première résultant de la formation d'un glycogène de haut poids moléculaire contenant des protéines capables de former des ponts disulfures, et la deuxième résultant de la formation d'un glycogène de faible poids moléculaire contenant peu ou pas de protéines aussi capables de former des ponts disulfures. Dans le foie, une surproduction de glycogène de faible poids moléculaire s'observe en parallèle avec une augmentation de la concentration de glycogène total. Donc, la resynthèse de glycogène hépatique chez l'animal nourri suite à une période de jeûne favoriserait en premier lieu la synthèse de glycogène de faible poids moléculaire. Par la suite, ce dernier serait converti en glycogène de haut poids moléculaire. Ces résultats suggèrent deux étapes successives pour la synthèse du glycogène, l'une formant une particule de faible poids moléculaire et l'autre une particule de haut poids moléculaire. De plus, ces deux types de glycogène semblent être synthétisés dans des régions différentes de la cellule, possiblement le réticulum endoplasmique rugueux et le réticulum endoplasmique lisse. Enfin, mis à part leur différence de poids moléculaire et la présence de protéines, les deux particules de glycogène ne seraient pas différenciées (Calder et Geddes, 1983; Calder et Geddes,

1990a; Calder et Geddes, 1990b; Geddes et Stratton, 1977). Parallèlement, Calder et Geddes (1989) ont séparé en deux fractions le glycogène musculaire : une fraction enrichie en lysosomes et une autre enrichie en mitochondries. Les résultats ont montré que la fraction mitochondriale contenait peu de glycogène (glycogène cytosolique) tandis que la fraction lysosomale était associée avec une quantité un peu plus importante de glycogène. Au niveau structural, cette dernière fraction était, comme le glycogène lysosomal hépatique, largement enrichie en glycogène de haut poids moléculaire. Ces résultats suggèrent une compartimentation du métabolisme du glycogène musculaire qui est semblable à celle dans le foie (Calder et Geddes, 1989).

De façon plus dynamique, cette même équipe observa, chez des rats nourris après une période de jeûne de 40 heures que la synthèse du glycogène hépatique et musculaire était hétérogène en égard à la formation de glycogène de faible et de haut poids moléculaire. Le jeûne réduisait dramatiquement les réserves de glycogène hépatique (95 %) et diminuait de 55 % les réserves de glycogène musculaire tout en changeant la distribution du glycogène dans les deux fractions. Ces deux fractions étaient affectées différemment par le jeûne, avec une dégradation plus prononcée du glycogène de faible poids moléculaire dans le muscle squelettique, 20 % du glycogène de haut poids moléculaire et 73 % du glycogène de faible poids moléculaire contre 98 % et 95 % respectivement pour les deux mêmes fractions dans le foie. Après ingestion de nourriture, les réserves de glycogène étaient rétablies, mais à un rythme différent dans chacune des deux fractions. Brièvement, la synthèse de glycogène de haut poids

moléculaire était plus favorisée que celle du glycogène de faible poids moléculaire et ce même après une longue période d'exposition à la nourriture suite au jeûne (Calder et Geddes, 1992). Suite aux travaux du groupe de Calder sur le glycogène de faible et haut poids moléculaire du foie, il a été démontré que la glycogène synthétase est préférentiellement associée au glycogène de haut poids moléculaire et la glycogène phosphorylase avec du matériel de faible poids moléculaire (Barber et al., 1967; Calder et Geddes, 1992). L'ensemble de ses résultats du groupe de Calder supportent une compartimentation au niveau de la synthèse et de la dégradation du glycogène musculaire et hépatique.

Enfin, Friden et ses collaborateurs (1989), en étudiant la localisation intracellulaire du glycogène musculaire chez des sujets actifs et sédentaires, ont aussi montré l'hétérogénéité du glycogène. Selon cette étude, le glycogène était distribué dans différents compartiments intracellulaires, et l'utilisation du glycogène de ces différents compartiments, lors de l'exercice, serait dépendante du niveau d'entraînement du sujet et de l'intensité de l'exercice (Friden, Seger et Ekblom, 1985; Friden, Seger et Ekblom, 1989).

Parmi les modèles de compartimentation cités ci dessus, le présent travail repose sur le modèle de compartimentation établi par l'équipe de Rybicka et démontré par les études biochimiques et de microscopie électronique.

Les glycosomes

Les mécanismes impliqués dans la synthèse et la dégradation du glycogène, ainsi que la translocation des enzymes et des chaînes d'unités glycosyl vers les différentes régions de la molécule de glycogène, suggèrent que l'organelle composée de glycogène et de ses enzymes représente une unité fonctionnelle structurellement indépendante appelée **glycosome**. La notion de glycosome a été introduite pour la première fois en 1968 par Scott et Still. Ces organelles sont montrées en association avec leur propre machinerie enzymatique (figure 2). Il aura fallu plus de dix ans pour que les études de microscopie électronique confirment l'identification morphologique des glycosomes (Rybicka, 1979b; Gao, Cardell, Morris, Griffin et Cardell, 1995; Rybicka, 1996) même si les glycosomes ont été identifiés au préalable par les études biochimiques. Ces recherches ont employé des méthodes d'extraction drastiques (pour une revue voir Rybicka, 1996). Au niveau de la compartimentation du glycogène, ce qui importe c'est la solubilité des glycosomes. L'analyse de la solubilité des glycosomes à l'acide trichloroacétique (TCA) résulte en la distinction de deux types de glycosomes contenant chacun du glycogène, soit les **lyoglycosomes**, glycosomes solubles à l'acide et libres dans le cytosol, et les **desmoglycosomes**, qui sont les glycosomes résistant à l'acide et rattachés à des organites intracellulaires (figure 3). Ces deux glycosomes ou fractions correspondent aux lyoglycogènes et desmoglycogènes observés dans les études biochimiques (Willstatter et Rohdwald, 1934). Au niveau des lyoglycosomes et des desmoglycosomes, l'importance physiologique de ces deux fractions, avec le jeûne et l'exercice, est peu connue.

Études biochimiques :

Association enzymes - glycogène

En 1942, Lazarow, le premier qui a extrait du foie le glycogène, a trouvé que le glycogène était associé avec une très petite quantité de protéines. Il a précisé que malgré le faible contenu de protéines, ces dernières sont d'une très grande importance pour le maintien du glycogène sous forme de particule. Parmi les protéines identifiées en association avec le glycogène, nous citons la glycogène synthétase (GS), la glycogène phosphorylase (GP), les enzymes de branchement (EB) et de débranchement (ED), les protéines phosphatases, les protéines kinases et la glycogénine. Plus récemment, des protéines additionnelles se sont ajoutées à cette liste. Afin de ne pas alourdir la présente revue, nous mentionnons les travaux de Rybicka (1996), Roach et al. (2001) et Roach (2002) pour les enzymes glycogéniques, la liste complète et les rôles. Il est à noter que les fractions contenant le glycogène sont associées aux protéines représentant deux à quatre fois leur équivalent en poids. Ces données ont permis de conclure que le complexe glycogène-protéines au sein des glycosomes représente une unité structurale spécifique et fonctionnelle de la cellule et non pas un artéfact de la procédure d'isolation tel que supposé par Meyer et Lourau (1956); Roe, Bailey, Gray et Robinson, (1961) et Stetten et Stetten (1951).

Association protéines - protéines :

Outre les protéines récemment identifiées dans les glycosomes, des interactions protéines-protéines ont été observées (pour une revue voir Gasa et al., 2000; Newgard,

Brady, O'Doherty et Saltiel, 2000; Polishchuk, Brandt, Meyer, Varsanyi et Heilmeyer, 1995; Printen, Brady et Saltiel, 1997; Roach et al., 2001; Roach, 2002; Rybicka, 1996). Ces interactions ont été montrées très importantes dans le métabolisme du glycogène. L'interaction enzyme - enzyme est donc une composante essentielle pour l'association des enzymes à la particule de glycogène. Comme cité par Kruzynska, Ciaraldi et Henry, (2001), cette association du substrat et du produit (c.- à - d. glycogène) avec des enzymes de synthèse et de dégradation justifie le postulat de départ concernant l'existence du glycogène dans une organelle fonctionnelle impliquée dans le contrôle de son métabolisme.

Ces résultats concordent avec les observations des études au microscope électronique qui ont montré : 1) une association du glycogène avec les enzymes de son métabolisme dans la forme d'organelles, soit les glycosomes et 2) une association des glycosomes entiers avec d'autres composantes cellulaires (pour une revue voir Rybicka, 1996; Roach et al., 2001).

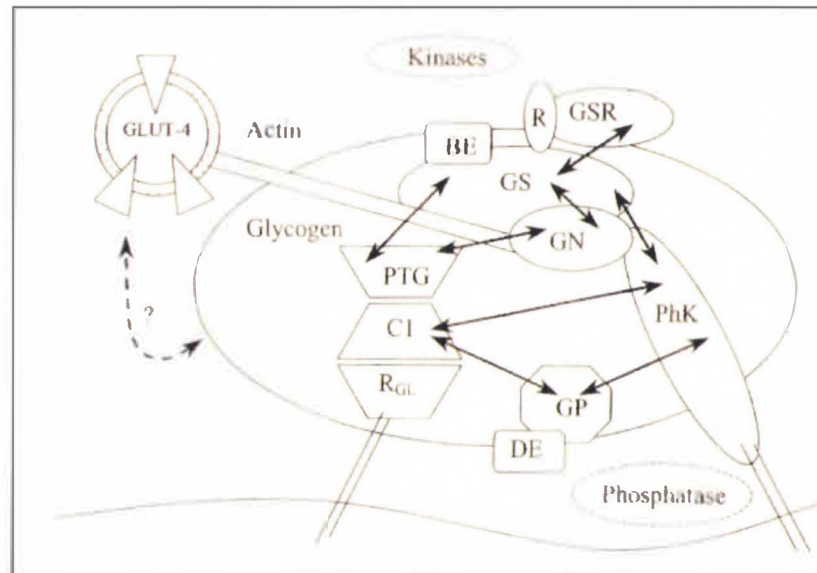


Figure 2. Modèle théorique de la granule de glycogène et son association avec des protéines. L'interaction entre les protéines est indiquée par une flèche à double sens. Adaptée de Roach et al., 1998.

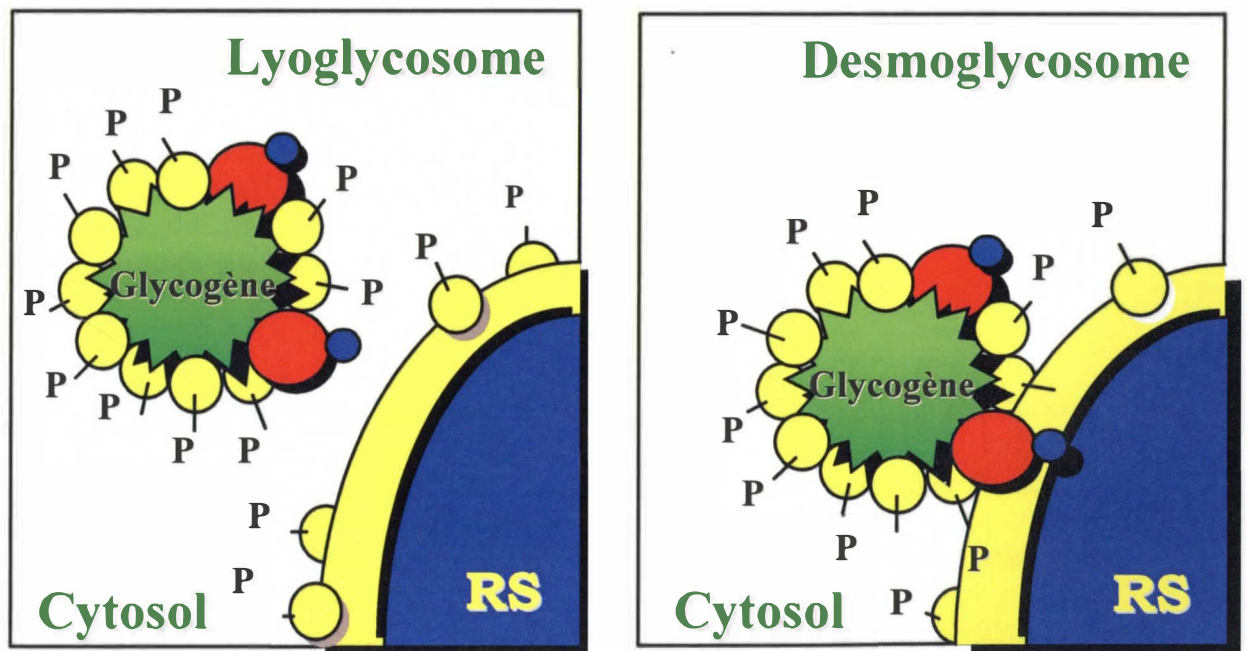


Figure 3. Lyoglycosome et desmoglycosome. Adaptée de Hubbard & Cohen, 1993.

Études au microscope électronique

Association enzymes - glycogène

En marquant différents tissus avec de l'iode, Ehrlich (1883) a remarqué que le glycogène est toujours associé avec un autre matériel qu'il a identifié plus tard à une protéine. Drochmans, en 1962, a étudié par microscope électronique du glycogène isolé du foie avec une technique de coloration négative. Cette technique montra trois types de structures du glycogène définies : les particules α , β , γ . Les particules α sont considérées comme des rosettes typiques du foie. Les particules β (20-30 nm) sont des sous-unités sphériques des rosettes α . Il a été proposé que les particules β sont liées ensemble au moyen de leur composantes protéiques (Geddes et Stratton, 1977a; Geddes et Stratton, 1977b). Enfin, les particules γ (environ 3 nm) sont identifiées comme des sous-unités des particules α et β . Ces dernières sont aussi visualisées en utilisant la coloration à l'uranyl/plomb (U/P). C'est la technique la plus communément utilisée parmi les techniques de microscopie électronique (Rybicka, 1996).

Avec les insuccès des méthodes de marquage initiales, une nouvelle technique de microscope électronique, similaire à la technique d'acide périodique de Schiff (PA-Schiff reagent), a été ainsi introduite. C'est le traitement avec l'acétate d'uranyl qui a un effet fixatif (Terzakis, 1968). Cette nouvelle technique a montré un meilleur contraste des membranes et des autres composantes cellulaires que les précédentes. Des fibres cardiaques de chien ont été traitées avec de l'acétate d'uranyl et de façon histochimique (Rybicka, 1977; Rybicka, 1979a). Les sections marquées avec l'acétate d'uranyl ont

montré des granules sphériques de 20-30 nm, tandis que les sections marquées histochimiquement (Thiéry, 1967) ont montré des particules de 3 nm agrégées à l'intérieur des particules β de 20-30 nm. Considérant le postulat des études biochimiques concernant l'association des protéines au glycogène (Leloir et Goldemberg, 1960; Tata, 1964; Meyer, Heilmeyer, Haschke et Fischer, 1970) et le fait que les protéines réagissent généralement avec l'U/Pb, le marquage obtenu par l'acétate d'uranyl est identifié ainsi comme une protéine glycosénique (Rybicka, 1996). L'auteur supposait que l'acétate d'uranyl induisait une dissociation des protéines du glycogène. Cette dissociation comparable à celle induite par l'acide trichloroacétique le rendait soluble. Les glycosomes sont donc formés de protéines solubles, immobilisées par leur absorption au glycogène. Cette absorption est très sensible au pH. Sous traitement par acétate d'uranyl, les protéines se dissocient du glycogène et deviennent solubles. Au microscope, ceci est indiqué par la disparition des granules marqués avec l'U/P. Basée sur ces résultats, l'auteure a conclu que les structures considérées comme particules de glycogène représentaient des organelles, glycosomes composés de protéines (marquées par U/Pb) et du glycogène (marqué par histochimie).

Association glycosomes – composantes cellulaires

Les études de microscopie électronique ont montré que plusieurs composantes des glycosomes interagissent avec d'autres composantes intracellulaires (Rybicka, 1996). Il est établi que le complexe glycosome-protéines est physiquement associé avec le réticulum sarcoplasmique et endoplasmique (Goldstein, Murphy, Van Winkle et

Entman, 1985; Rybicka, 1981a; Rybicka, 1981b; Wanson et Drochmans, 1968; Wanson et Drochmans, 1972). Wanson et Drochmans (1972) ont aussi confirmé que les glycosomes sont attachés aux membranes cellulaires. Ces glycosomes demeuraient intacts dans les tissus traités à l'acétate d'uranyl, même si les glycosomes libres dans le cytosol étaient détruits. Les glycosomes résistant à l'acétate d'uranyl portent le nom de desmoglycosomes et correspondent à la fraction résistante à l'acide et aux desmoglycogènes observés dans les études biochimiques. Tandis que les lyoglycosomes représentent la fraction libre présente dans le cytosol et aux lyoglycogènes observés dans les études biochimiques. Outre son association avec les réticulums sarcoplasmique et endoplasmique et avec les filaments intermédiaires, les desmoglycosomes sont aussi attachés à d'autres organites intracellulaires (Hesketh et Pryme, 1991). Parmi ceux-ci, se retrouvent les myofibres, les mitochondries, le sarcolemme, l'appareil de Golgi et les ribosomes (Rybicka, 1996). Cette association confère aux desmoglycosomes une meilleure stabilité et une plus grande disponibilité afin de fournir le glucose-6-phosphate qui servira entre autres à fournir du glucose en cas de demande subite (Tata, 1964). Donc, les études de microscopie électronique ont ainsi confirmé la présence de deux fractions d'une compartimentation du glycogène hépatique et musculaire telle que décrite par les études biochimiques.

Lyoglycosomes et desmoglycosomes : données hépatiques et musculaires

L'hétérogénéité du glycogène étant maintenant bien acquise, examinons maintenant les données qui décrivent le glycogène en tenant compte de la compartimentation.

La proportion de chacun des deux glycosomes dépend du type de tissu et de l'état physiologique au moment du prélèvement et des mesures (Bloom, Lewis, Schumpert et Shen, 1950; Cordier et Dessaux, 1952; Gaspar, 1957; Genkin, 1946; Russel et Bloom, 1955; Smythe, Watt et Cohen, 1990; van Heijningen et Kemp, 1955; Wajzar, 1939; Willstätter et Rhodewald, 1934). Le foie contient une très petite quantité de glycogène dans les desmoglycosomes (Butler, Lee et Whelan, 1977; Rybicka, 1996) et d'une manière générale, le foie est décrit comme un tissu pauvre en desmoglycosomes. En effet, ce tissu contient une large proportion de lyoglycosomes solubles à l'acide trichloroacétique (Calder, Geddes et Leecht, 1986). Chez les animaux bien nourris, la majorité du glycogène hépatique est contenu dans la fraction lyoglycosome. Au contraire, chez les animaux à jeun, le glycogène hépatique prédomine dans la fraction desmoglycosome (Rybicka, 1996). En ce qui concerne le muscle squelettique, 75 % du glycogène se retrouve dans les desmoglycosomes et 25 % dans les lyoglycosomes chez l'homme (Adamo, Tarnopolsky et Graham, 1998). Cette répartition varie en fonction de la quantité totale de glycogène emmagasinée. Le glycogène de la fraction libre, lyoglycosome, augmente chez l'Homme et chez l'animal avec une concentration élevée de glycogène musculaire (Jansson, 1981). Néanmoins, au delà de

500 μ moles d'unités glycosyl/g de muscle, le glycogène peut être équitablement réparti entre les deux fractions (Adamo et al., 1998). Pour ce qui est du cœur, la répartition du glycogène est équitable entre les desmoglycosomes et les lyoglycosomes (Bartley et Dean, 1968). À la suite de l'identification de deux glycosomes contenant du glycogène, ces données confirment encore l'hétérogénéité du glycogène.

L'existence de deux fractions de glycogène a fait l'objet de nombreuses publications, (pour une revue, voir Stetten et Stetten, 1960; Roe et al., 1961; Shearer et Graham, 2002; Shearer et Graham, 2004; Lomako, Lomako et Whelan, 2004) mais leur rôles respectifs et leur régulation demeurent encore à élucider. Dans les travaux disponibles, indépendamment des études (chez l'Homme ou chez l'animal) et de l'état nutritionnel, le lyoglycosome apparaît comme un réservoir élastique et ce, contrairement au desmoglycosome qui semble être plus limité en termes de quantité de glycogène emmagasinée. Cette dernière fraction semble bien être métaboliquement plus active que le lyoglycosome et par le fait même plus facilement accessible et disponible pour une utilisation immédiate (Stetten et Stetten, 1960; Shearer et Graham, 2002; Shearer et Graham, 2004). Une inter conversion entre les deux fractions de glycogène musculaire a aussi été rapportée (Roe et al., 1961). Cette inter conversion a été observée en situation de jeûne, d'injection d'adrénaline, d'insuline, de thyroxine, d'adrénalectomie, d'hypophysectomie et de travail musculaire (Roe et al., 1961). Les mécanismes exacts de cette inter conversion sont encore inconnus.

Les études sur le muscle squelettique ont noté que le glycogène dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes possède des taux de synthèse, de dégradation et de sensibilité à l'ingestion des glucides qui diffèrent (Adamo et al., 1998; Graham, Adamo, Shearer, Marchand et Saltin, 2001; Shearer, Marchand, Dyck, Tarnopolsky et Graham, 2001). Le glycogène des fractions desmoglycosomes et le glycogène des fractions lyoglycosomes représentent deux substrats énergétiques de la glycogénolyse durant la contraction musculaire aiguë (Derave, Gao et Richter, 2000), chronique (Prats et al., 2002) et durant un exercice intense (Brojer, Jonasson et Schuback, 2002b). Mais la dégradation du glycogène de ces deux fractions diffère avec le type d'exercice (Graham et al., 2001). Le glycogène des fractions lyoglycosomes devient essentiellement métabolisé lors d'un exercice de type aérobie (Asp, Daugaard, Rohde, Adamo et Graham, 1999; Essén-Gustavsson et Jensen-Waern, 2002) et le glycogène de la fraction desmoglycosome essentiellement lors d'un exercice de type anaérobie (Graham et al., 2001; Shearer et al., 2001). Ces premiers résultats indiquent que, même à l'exercice, l'utilisation du glycogène au sein des deux types de glycosomes ne doit plus être considérée comme uniforme.

Alors que la différenciation fonctionnelle des fractions de glycogène a été établie au niveau musculaire, le foie reste beaucoup moins exploré. Les données sur la répartition du glycogène hépatique entre les deux fractions chez l'Homme sont absentes. Étant donné l'invasivité de ce type d'expérimentation, le recours au modèle animal s'avère nécessaire pour comprendre la compartimentation du glycogène hépatique. Le

modèle animal permet d'obtenir des données plus approfondies sur la déplétion du glycogène hépatique. Notre équipe a récemment noté des changements de la compartimentation de glycogène hépatique avec le jeûne (Melançon, Milot, Massicotte, Péronnet et Lavoie, 2004), l'exercice aigu (Melançon et al., 2004), l'exercice chronique (Drouin et al., 2004) et le diabète (Drouin et al., 2004). Sans entrer dans les détails, en plus de modifier la répartition du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes, l'entraînement en endurance tout comme le diabète du type 1 semblent perturber la structure globale de la particule de glycogène (Drouin et al., 2004). De plus, l'entraînement en endurance favorise la répartition du glycogène dans les desmoglycosomes et augmente la réponse de la glycogénolyse du glycogène induite par le glucagon et ce, pour une même concentration du glycogène (Drouin et al., 2004). Une optimisation de la molécule de glycogène hépatique et une compartimentation dans les fractions desmoglycosomes pourraient expliquer cette augmentation de la réponse de la glycogénolyse induite par le glucagon après un entraînement en endurance (Drouin et al., 2004). À quantité égale, la qualité du glycogène hépatique par ses changements de compartimentation et de structure semble influencer l'optimisation par laquelle le glucose s'avère disponible. L'implication physiologique de cette optimisation demeure à explorer.

Synthèse du glycogène : nouveaux concepts

Cette étude ne concerne pas la synthèse du glycogène contenu dans les deux fractions après différents états physiologiques. Toutefois, le processus de synthèse du

glycogène reste déterminant et est la base de la controverse existante concernant l'existence de deux différentes formes de glycogène. Dans ce processus, nous parlerons d'une protéine clé, la glycogénine, protéine enclenchant la synthèse du glycogène.

Partout où nous retrouvons du glycogène, particulièrement au niveau musculaire et hépatique, la synthèse de glycogène débute par une amorce d'unités glycosyl fixées sur une glycoprotéine qui agit comme un médiateur et est appelée glycogénine (Alonzo, Lomako, Lomako et Whelan, 1995b; Calder, 1991). Cette glycoprotéine déclenche une auto-glycosylation et s'associe à une dizaine de résidus glycosyl pour former un premier oligosaccharide. L'enzyme glycogène synthétase permet à cette réaction d'allonger le polysaccharide, formant ainsi du glycogène (Smythe, Villar-Palasi et Cohen, 1989; Smythe et al., 1990). Un modèle de la biosynthèse du glycogène à partir de la glycogénine a été proposé par Roach et ses collègues (1997) et est largement accepté par la communauté scientifique. Dans ce modèle, la synthèse du glycogène implique au moins trois phases : l'initiation, l'allongement et le branchement. La figure 4 illustre ce modèle.

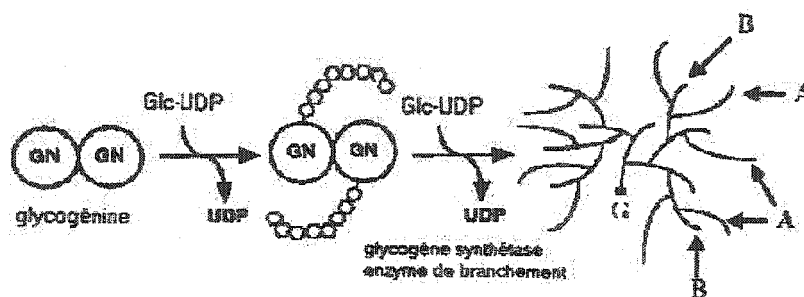


Figure 4. Modèle de synthèse du glycogène. Adaptée de Roach et al., (2001). A et B représentent respectivement les chaînes branchées et non branchées.

Glycogénine

La glycogénine a été identifiée et caractérisée par Kennedy et ses collaborateurs en 1985 (pour une revue voir Alonzo, Lagzdins, Lomako, Lomako et Whelan, 1995a; Gannon et Nuttall, 1996; Roach, 1997, 2000, 2002; Smythe et Cohen, 1991; Shearer et Graham 2002; Lomako et al., 2004). Elle est considérée comme une sous-unité de la glycogène synthétase, attachée d'une façon covalente au glycogène musculaire (Alonzo et al., 1995a) et hépatique (Gannon et Nuttall, 1996; Smythe et al., 1989). Une propriété essentielle de la glycogénine dans la formation du glycogène est son habileté à se servir comme un substrat pour allonger la chaîne (autoglycosylation), sous l'action du glycogène synthétase (Roach et al., 2001). L'ajout d'unités glycosyl forme le proglycogène et l'ajout supplémentaire d'autres unités glycosyl forme le macroglycogène, c'est-à-dire la molécule de glycogène mature.

La quantité totale de glycogène emmagasinée dans le foie et dans le muscle squelettique dépend de la quantité de glycogénine et du type de la cellule. Peu de glycogénine signifie moins de formation de glycogène, tel que démontré dans le muscle squelettique chez l'Homme (Shearer et al., 2001). Au contraire, le foie nécessite moins de glycogénine pour former la même quantité de glycogène comparé avec le glycogène musculaire. Ceci peut être expliqué par la formation de larges molécules de glycogène ou par la présence d'une autre protéine-glycogénine aujourd'hui encore inconnue. Cette dernière possibilité mérite l'attention depuis qu'on a récemment rapporté chez l'humain un deuxième gène de glycogénine, CYG2, qui code une autre forme spécifique de

glycogénine dans le foie, la glycogénine 2 (Mu, Skurat et Roach, 1997; Zhai, Mu, Zong, DePaoli-Roach et Roach, 2000). Peu d'informations sont disponibles concernant la fonction de cette glycogénine spécifique au foie (Ercan, Gannon et Nuttal, 1994).

Proglycogène et macroglycogène :

Whelan et ses collègues (Alonzo et al., 1995b, Lomako, Lomako et Whelan, 1991, 1995; Lomako et al., 1993) ont proposé l'existence d'un intermédiaire stable et défini dans la synthèse et la dégradation du glycogène, appelé proglycogène (PG). Selon ces auteurs, le proglycogène représente un polysaccharide intermédiaire entre la glycogénine et la granule mature de glycogène (Lomako et al., 1993). Il a été suggéré que le glycogène oscille, selon la demande énergétique et selon la disponibilité de glucose entre le macroglycogène et le proglycogène (Alonzo et al., 1995b). Ces deux formes semblent être métabolisées comme des entités séparées (Alonzo et al., 1995b; Lomako et al., 1991). La masse du proglycogène est approximativement 400 KDa (p400) et contient jusqu'à huit niveaux, avec un contenu en protéines supérieur à 10 % par poids (Alonzo et al., 1995a; Alonzo et al., 1995b). Au contraire, le glycogène mature ou macroglycogène (MG) a une masse d'environ 10^7 KDa et sa structure peut atteindre jusqu'à 12 niveaux. La proportion relative du proglycogène varie dans différents organes, de 3 % dans le foie, 15 % dans le muscle squelettique et jusqu'à 50 % dans le cœur (Alonzo et al., 1995b). Des structures similaires ont été potentiellement décrites dans le foie ``protéoglycan`` (Ecran et al., 1994). Selon ces nouvelles propositions, un autre schéma de dégradation et de synthèse du glycogène a été ainsi proposé (figure 5).

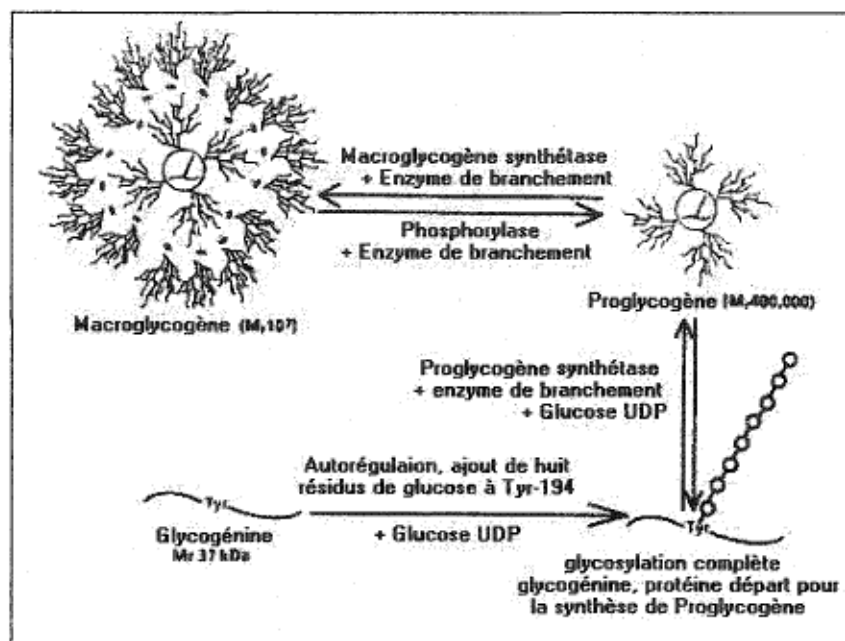


Figure 5. Synthèse et dégradation du glycogène (macroglycogène) via proglycogène.
Adaptée de Lomako et al., 2004.

Bien que la découverte de cet ordre hiérarchique, impliquant la maturité de la molécule, ait amélioré notre compréhension de la structure et du métabolisme de ce polysaccharide de stockage (Alonzo et al., 1995b), plusieurs aspects restent à être établis plus fermement (Roach et al., 2001). C'est la raison pour laquelle plusieurs études ont remis en question l'existence du proglycogène comme un intermédiaire stable dans les voies de synthèse et de dégradation du glycogène (Hansen, Derave, Jensen et Eichter, 2000; Roach, 2000, 2001; Skurat et Roach, 1997; Skurat et Roach, 2000).

En analysant les effets de la stimulation de la glycogénine sur le métabolisme du glycogène, Skurat et Roach (1997) ont démontré que le degré à partir duquel le

proglycogène apparaît comme une espèce discrète dépendait largement des conditions électrophorétiques utilisées. Les auteurs ont proposé que l'apparition du proglycogène n'était qu'un artéfact causé par la discontinuité du gel électrophorèse. Au contraire des résultats de Shearer et collaborateurs (2000), l'équipe de Skurat a aussi démontré que la stimulation de la glycogénine n'avait aucun effet sur l'augmentation de la concentration de glycogène stockée (Skurat et Roach, 2000; Skurat et Roach, 1997). Des résultats similaires avaient rapporté une légère augmentation non significative de la quantité de glycogène stockée suite à une stimulation de la glycogénine (Hansen, Jensen et Barbetti, 1998; Manzella, Roden et Meezan, 1994; Mu et al., 1997), suggérant que le nombre de granules ne semble pas être un facteur limitant dans la capacité de stockage du glycogène. Une étude plus récente réalisée par Hansen et ses collaborateurs (2000) a investigué cette relation. Ces derniers ont soumis des rats à un programme d'entraînement pour augmenter la concentration de glycogène. La quantité ainsi que l'activité de la glycogénine ont été mesurées. Les résultats ont montré qu'aucune augmentation de la quantité ou de l'activité de la glycogénine en corrélation avec l'augmentation des réserves de glycogène dans le muscle, n'a été observée par l'effet de l'entraînement. Une diminution de l'activité de la glycogénine chez le groupe entraîné a été aussi observée. Ces résultats suggèrent l'absence d'un effet limitant de la glycogénine dans la surcompensation du glycogène, comme il a été démontré par Shearer et collaborateurs (2000). D'autre part, la constance du nombre de molécules de glycogénine, considérant le postulat stipulant que le glycogène existe sous diverses formes entre le proglycogène et le macroglycogène et que le proglycogène correspondait

à un intermédiaire stable conduisant à la formation de macroglycogène et qui ne semble jamais dégradé jusqu'au niveau de la glycogénine (Alonzo et al., 1995b), implique que la taille des molécules de proglycogène augmente avec la quantité de glycogène (Hansen et al., 2000). En conséquence, le proglycogène ne représente pas une fraction distincte du glycogène. Celui-ci existe, mais en tant qu'une forme de glycogène à un certain stade de développement. Par ailleurs, d'un point de vue technique, la séparation par l'acide isole des glycosomes contenant du glycogène selon leur attachement (desmoglycosomes) ou non (lyoglycosomes) aux composantes intracellulaires et non pas un type de glycogène contenu dans les glycosomes.

Outre l'existence d'une forme intermédiaire de glycogène, il a été proposé que chaque forme de glycogène, c'est-à-dire le proglycogène et le macroglycogène, possède sa propre isoforme de glycogène synthétase. Ceci n'a pas été encore prouvé biochimiquement. Des travaux subséquents sur le proglycogène et le macroglycogène ont échoué à confirmer l'existence d'une molécule discrète et que le glycogène consiste en une continuité de ranges de tailles (Marchand et al., 2002; Roach et al., 1998). Malgré ceci, certains groupes, aujourd'hui, continuent à utiliser une nomenclature faisant référence au poids moléculaire tout en utilisant la technique d'extraction à l'acide pour séparer les différentes fractions de glycogène selon leur contenu en protéines. À la lumière des informations disponibles dans la littérature, une schématisation de la compartimentation et de la maturité du glycogène peut être présentée (figure 6).

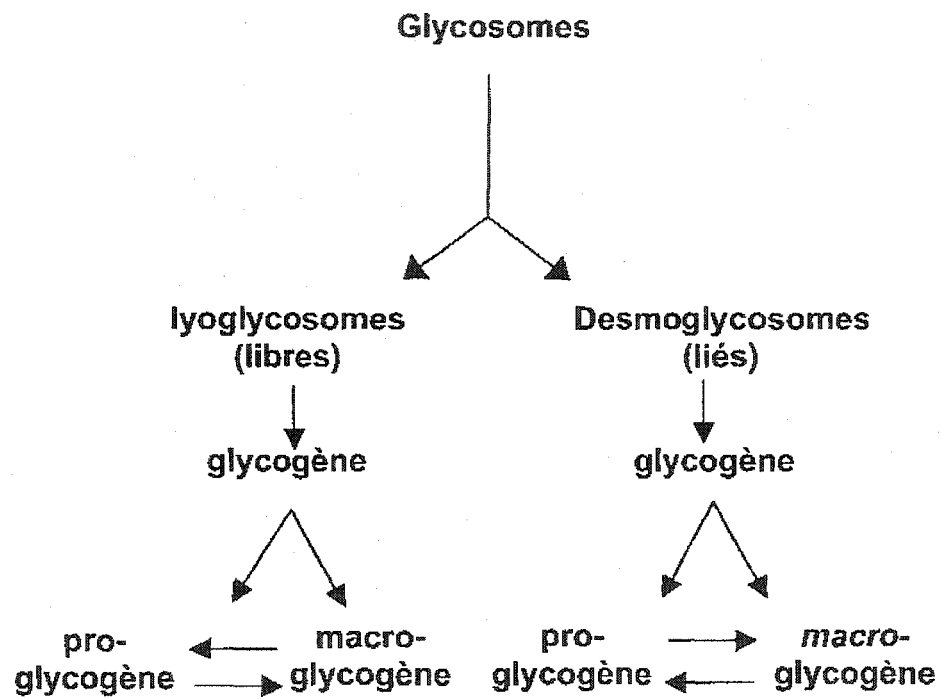


Figure 6. Arrangement des glycosomes.

CHAPITRE II

PROBLÉMATIQUE

Le glycogène se trouve compartimenté au sein de deux types d'unités fonctionnelles, complexes et à autorégulation, appelées glycosomes : soit les desmoglycosomes et les lyoglycosomes, distingués sur la base de leur solubilité à l'acide (Rybicka, 1996). Ces deux fractions possèdent des métabolismes différents en termes de la régulation du glycogène (Alonzo et al., 1995; Marchand et al., 2002; Shearer et al., 2002; Shearer et Graham, 2004). Bien que certaines études appuient la compartimentation du glycogène musculaire, il n'y a toutefois aucune donnée sur la répartition du glycogène entre les deux fractions desmoglycosomes et lyoglycosomes et sur leur contribution respective pendant la glycogénolyse hépatique induite par le jeûne ou l'exercice.

Tenant compte des nouveaux concepts d'hétérogénéité du glycogène, l'objectif de ce travail est de documenter et de suivre la compartimentation du glycogène hépatique et musculaire lors de la glycogénolyse induite par le jeûne et l'exercice. Spécifiquement, nous voulons mesurer, chez le rat, la concentration en glycogène hépatique et musculaire dans chacun des glycosomes à la suite d'un exercice de 45, 90 et 180 minutes et à la suite d'un jeûne de 6, 12 et 24 heures.

CHAPITRE III

MÉTHODOLOGIE

Modèle expérimental

Le protocole expérimental a été approuvé par le comité de Bons Soins aux Animaux de l'Université du Québec à Trois-Rivières. Les animaux ont été traités conformément au guide du Conseil Canadien de Bons Soins des Animaux (1993).

Les expériences présentées dans ce travail ont été faites chez des rats mâles Sprague-Dawely (Charles River, St-Hyacinthe, Québec, Canada). Les animaux ont été placés dans des cages individuelles, dans une pièce contrôlée dont la température était maintenue à 20° C avec une humidité relative de 55 %. Ils étaient exposés à un cycle standard de 14 heures de jour (6:00 AM → 20:00 PM) et de 10 heures de nuit (20:00 PM → 6:00 AM). Les animaux avaient accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture (Purina Chow) durant toute la période d'acclimatation.

Des rats dont le poids varie entre 300 et 325 g ont été répartis d'une façon aléatoire en sept groupes : trois groupes exercice (Ex 45 min, Ex 90 min et Ex 180 min), trois groupes jeûne (J6 H, J12 H et J24 H) et enfin un groupe contrôle (GC). Le nombre de rats pour chaque groupe a été fixé à sept. Les groupes se distinguent comme suit :

- Le groupe J6 H a été soumis à un jeûne de 6 heures de 2:00 AM→ 8:00 AM.
- Le groupe J12 H a été soumis à un jeûne 12 heures de 10:00 PM→ 10:00 AM.

- Le groupe J24 H a été soumis à un jeûne de 24 heures de 8:00 AM→ au lendemain 8:00 AM.
- Le groupe Ex 45 a été soumis à un exercice de nage d'une durée de 45 minutes.
- Le groupe Ex 90 a été soumis à un exercice de nage d'une durée de 90 minutes.
- Le groupe Ex 180 a été soumis à un exercice de nage d'une durée de 180 minutes.
- Le groupe GC, ou groupe contrôle, a été nourri et maintenu au repos.

Les protocoles expérimentaux des groupes jeûne et des groupes exercice sont illustrés dans les figures 7 et 8, plus loin.

Jeûne

Durant sept jours avant l'expérimentation, lors de la période d'acclimatation, les rats avaient libre accès à l'eau et à la nourriture. Les heures de jeûne ont été déterminées en respectant le cycle circadien de l'animal. Leur consommation journalière a été déterminée en pesant la nourriture à chaque six heures et ce, pendant une semaine. La consommation de nourriture pour chaque groupe de jeûne a été estimée en soustrayant le restant de nourriture au début de la période de jeûne de la quantité de nourriture totale. Lors de la période de jeûne, les rats ont été privés de toute forme de nourriture, tout en gardant accès libre à l'eau durant la période mentionnée (voir groupes). Chaque rat a été pesé avant et après le jeûne, soit au moment du sacrifice.

Exercice

Une semaine avant l'exercice, les animaux ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique (50 mg / kg poids corporel) et un cathéter a été inséré dans la veine jugulaire droite, pour accélérer l'effet de l'anesthésiant après exercice. Le cathéter a été rempli d'une solution d'héparine/saline, bouché, passé sous-cutané et sorti au niveau du cou à travers une coupure de la peau (Rossetti, Giaccari, Klein-Robbenhar et Vogel, 1990a; Rossetti, Frontoni, Dimarchi, DeFronzo et Giaccari, 1990b; Giaccari et Rossetti, 1992; Giaccari et al., 1995, Giaccari et al., 1998, Melançon et al., 2004). Trois jours après la procédure de canulation, les rats ont été soumis à quatre courtes sessions de 30 min de nage sur quatre jours, afin de les adapter à ce type d'exercice. Après cette séance d'acclimatation, les trois groupes ont été soumis au protocole expérimental qui consistait en une unique séance de 45, 90 et 180 min de nage sans charge additionnelle, respectivement pour les groupes Ex 45, Ex 90 et Ex 180. L'exercice de nage a été fait entre 8:00 AM et 11:00 AM à quatre rats par bassin, et dans un bassin de dimensions 60 x 90 cm contenant une profondeur de 50 cm d'eau à 37° C.

Pour le groupe de contrôle, les animaux ont été maintenus au repos et manipulés à tous les jours. Ils avaient libre accès à la nourriture et à l'eau.

Immédiatement après la période de jeûne ou la session d'exercice pour tous les groupes, les rats ont été rapidement anesthésiés par injection intrapéritonéale (intraveineuse pour les groupes exercice) de pentobarbital sodique (50 mg/kg de poids

corporel) selon la procédure décrite par Singh et Avery (1975). Leur abdomen a été rapidement ouvert. Un échantillon de sang (5 ml) a été recueilli de la veine cave abdominale et a été réparti dans deux tubes EDTA, dont un contenant de l'aprotinine (10 000 KIU/ml, Bayer). Le foie et le *rectus femoris* de la jambe droite ont été rapidement prélevés, emballés avec du papier aluminium et congelés dans l'azote liquide. Après séparation des cellules rouges par centrifugation (3000 x g), le plasma et les tissus ont été conservés à une température de -80° C jusqu'à utilisation. Finalement, les animaux ont été euthanasiés par section de l'aorte.

Analyses

Compartimentation et glycogène

Les fractions lyoglycosomes et desmoglycosomes ont été séparées sur la base de la solubilité dans l'acide perchlorique (PCA), selon la méthode décrite par Adamo et Graham (1998). Le contenu en glycogène de chaque fraction a été déterminé par hydrolyse à l'acide (Passoneau et Lauderdale, 1974). En bref, 200 µl d'acide perchloroacétique froid (1.5M) (Fisher Scientific, Ontario, Canada) a été ajouté à 5-10 mg de foie ou de muscle lyophilisés. Les tissus ont été mélangés avec une tige en plastique pour s'assurer que le morceau entier de tissu a été exposé à l'acide. L'extraction continuait sur glace pendant 20 minutes. Les échantillons étaient ensuite centrifugés à 4°C (3000 x g) pendant 15 min, après quoi 100 µl du surnageant ont été séparés pour la détermination des lyoglycosomes. Un échantillon additionnel du

surageant a été mis de côté pour l'analyse du glucose libre. Le culot a été récupéré pour la détermination des desmoglycosomes. Les échantillons ont été bouillis pour deux heures dans 1 ml d'acide chlorhydrique (HCL 1M, Fisher Scientific, Ontario, Canada) et neutralisés par l'addition de 750 µl de trismabase 2M (Sigma-Aldrich Canada, Ontario, Canada), mélangés et centrifugés (3000 x g pendant 5 minutes). Subséquentement, le glucose a été dosé par spectrophotométrie dans le surnageant en mesurant les unités glycosyl formées, comme décrit par Michal (1985) et rapporté en micromoles d'unités glycosyl / gramme de tissu sec.

Métabolites et hormones pancréatiques

Glucose

La concentration plasmatique du glucose est dosée à l'aide d'une trousse commerciale (Thermo DMA, Louisville, Co, USA) utilisant des réactions enzymatiques. Selon cette méthode, le nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) est produit à partir du glucose par des réactions de phosphorylation et d'oxydation impliquant respectivement l'hexokinase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase. La concentration de NADH produit est proportionnelle à la concentration de glucose contenu dans l'échantillon. Elle est mesurée par absorbance de lumière à 340 nm au spectrophotomètre (Sigma Diagnostics, St-Louis, Mo).

Lactate

La concentration plasmatique de lactate est dosée à l'aide d'une trousse commerciale (Inter Medico, Markham, Ontario, Canada) utilisant l'action d'enzymes colorimétriques. Selon cette méthode, l'acide lactique sous l'action de la lactate oxydase et de la peroxydase produit une coloration. L'absorbance de cette coloration est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 540 nm. Les valeurs obtenues sont comparées par la suite à une mesure étalon contenant 4,44 mM d'acide lactique.

Insuline

La concentration plasmatique de l'insuline est dosée à l'aide d'une trousse commerciale (Medicorps, Montréal, Québec, Canada) utilisant une technique radioimmunologique. Selon cette technique, de l'insuline marquée à l'iode 125 entre en compétition avec l'insuline non marquée afin de se lier aux anticorps de la paroi interne des tubes. La quantité de radioactivité mesurée au compteur gamma (Riastar, Packard A Camberra Campagny) est inversement proportionnelle à la concentration d'insuline des échantillons dosés. La concentration de ces dernières est estimée par interpolation sur la courbe standard tracée selon les valeurs obtenues des mesures étalons.

Glucagon

La détermination de la concentration plasmatique de glucagon est effectuée par essai radioimmunologique, utilisant une trousse commerciale (Diagnostic Products, Los Angeles, Ca, USA). Après une préincubation du plasma avec l'anticorps, le glucagon

marqué à l'iode 125 était mis en compétition avec le glucagon de l'échantillon pour les sites disponibles de l'anticorps. Après l'incubation, la séparation des complexes glucagon-anticorps se fait par précipitation au PEG. La radioactivité du précipité est alors mesurée dans un compteur gamma (Riastar, Packard A Camberra Campagny). Cette valeur est ensuite comparée avec les valeurs standards de concentrations connues en glucagon. La concentration plasmatique de glucagon de chacun des échantillons est interpolée à partir de cette courbe étalon.

Analyse des données

La concentration totale de glycogène dans chacun des tissus correspond à la somme des concentrations mesurées de glycogène des fractions desmoglycosomes et lyoglycosomes. Les proportions du glycogène des desmoglycosomes et des lyoglycosomes ont été obtenues en divisant la concentration du glycogène de chaque fraction par la concentration totale de glycogène (Gt), et reportées en pourcentage.

Statistiques

Tous les résultats sont présentés sous la forme : moyenne \pm erreur type (ETM). L'évaluation des données a été réalisée par une analyse de la variance à une dimension (Anova) pour comparer tous les paramètres mesurés dans cette étude. Quand ces analyses avaient révélées des différences significatives, un test post hoc a été utilisé pour la comparaison avec le groupe contrôle. Le test de Student a été utilisé pour la

comparaison entre le glycogène des deux fractions dans les tissus. Le seuil de signification a été fixé à 0,05.

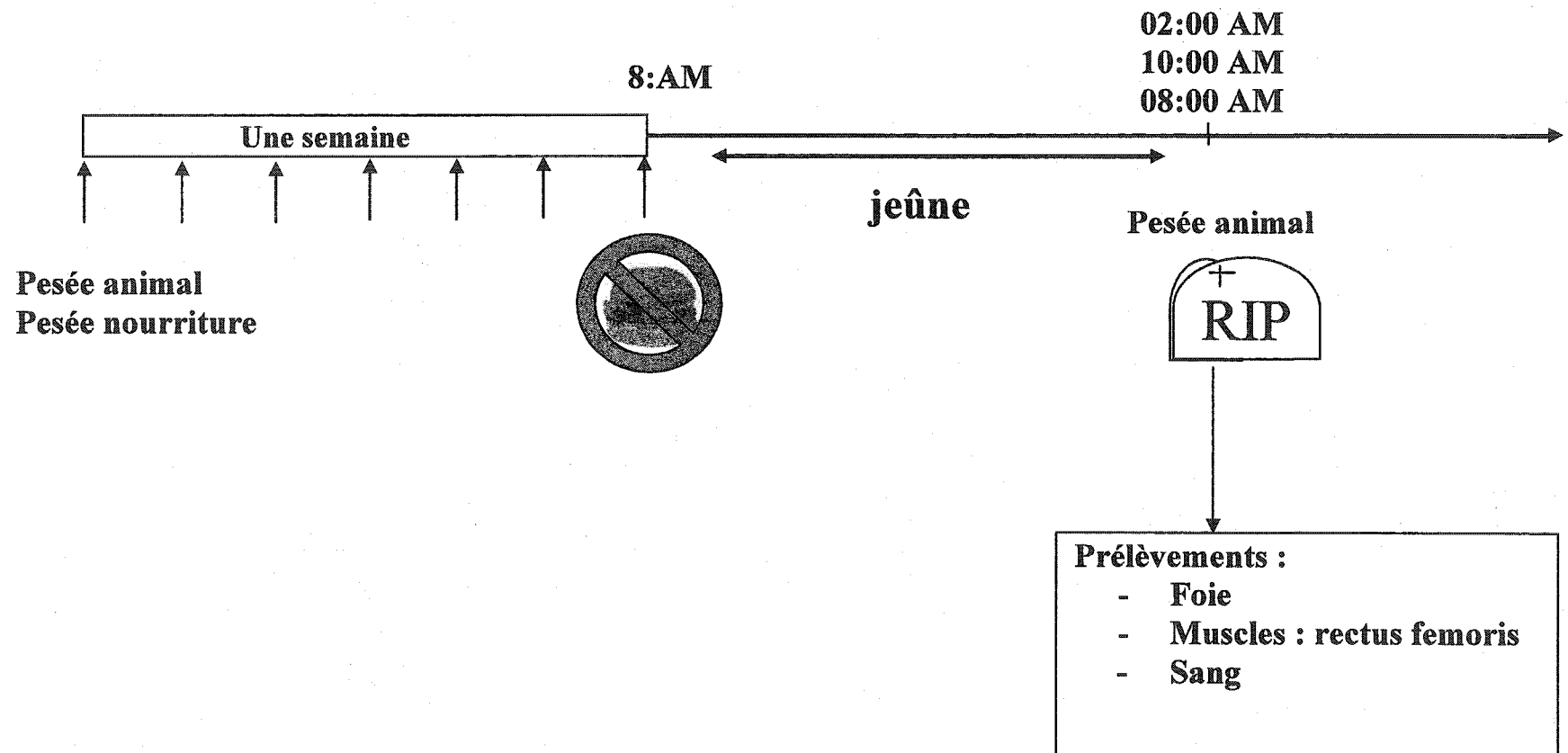


Figure 7. Protocole expérimental des groupes jeûne

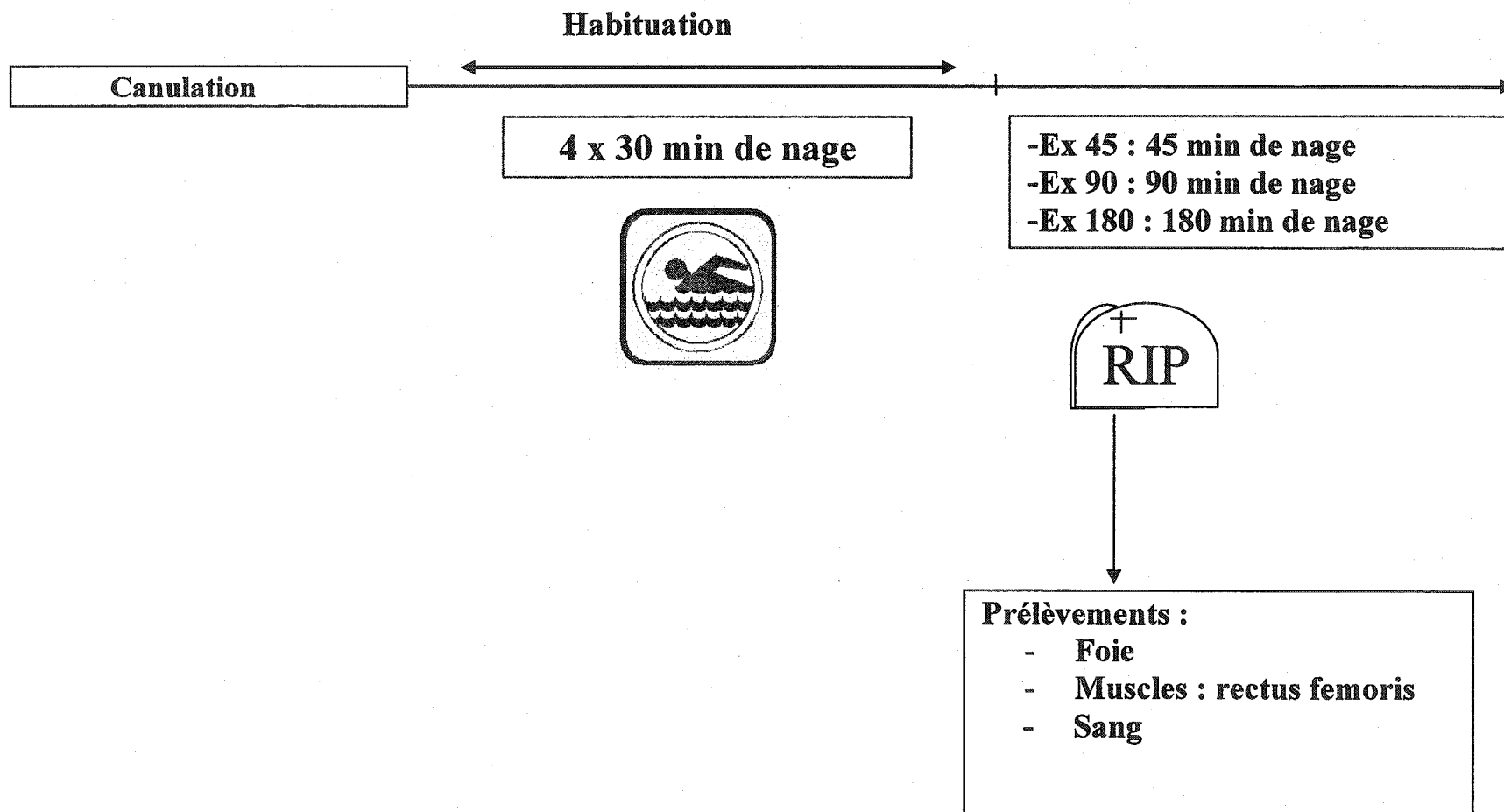


Figure 8. Protocole expérimental des groupes exercice

CHAPITRE IV

RÉSULTATS

Données descriptives

Poids corporel

Une période de jeûne induit une réduction de $352,6 \pm 2,5$ vs $343,1 \pm 2,9$; $361,0 \pm 5,1$ vs $346,2 \pm 5,5$ et $421,1 \pm 2,9$ vs $392,4 \pm 2,4$ g pour le jeûne de 6H, 12H et 24H, respectivement, correspondant à une perte respective de 2,7; 4,1 et 6,8% du poids corporel (tableau 2).

Consommation de la nourriture

Le suivi de la consommation journalière de nourriture est présenté au tableau 3. Ce tableau montre bien des différences significatives au niveau de la quantité de nourriture consommée par cycle de six heures ($P < 0,05$). Une quantité plus importante de nourriture a été consommée durant la période de nuit (20:00-8:00) que durant la période de jour (08:00-20:00) (tableau 3). La quantité moyenne de nourriture consommée durant 24 heures était de $25,4 \pm 1,1$ g.

Les quantités de nourriture consommées par groupe chez les rats à jeun sont inscrites au tableau 4. La différence entre la quantité de nourriture consommée par

groupe et la quantité totale consommée durant 24 heures correspond au manque associé au jeûne. Traduits en pourcentages, les manques correspondant au jeûne sont de 24, 54 et 100% respectivement pour les jeûnes de 6H, 12H et 24H.

Tableau 2

Effets du jeûne sur le poids corporel.

Paramètre			Groupes		
			Jeûne 6H	Jeûne 12H	Jeûne 24H
Poids	différence	(g)	- 9,6 ± 1,0	- 14,8 ± 1,1	- 28,7 ± 1,1
		(%)	- 2,7 ± 0,3	- 4,1 ± 0,3	- 6,8 ± 0,2

Tableau 3

Consommation de nourriture (g) par cycle de 6 heures et par 24 heures.

		Heures				
		8:00→14:00	14:00 →20.00	20:00 →2:00	2:00 →8:00	24 heures
Consommation de nourriture en g		2,2 ± 0,5	6,1 ± 0,4	9,4 ± 0,6	7,8 ± 0,6	25,4 ± 1,1

Tableau 4

Consommation de nourriture chez les groupes de jeûne.

		Groupes		
		Jeûne 6H	Jeûne 12H	Jeûne 24H
Consommation de nourriture	Quantité en g	19,3 ± 1,2	10,6 ± 0,6	0
	Quantité en %	76,0 ± 6,6	45,8 ± 4,9	0

Métabolites et hormones (tableaux 5 et 6)**Glucose**

La concentration plasmatique de glucose est de $7,4 \pm 0,8$ mmol/l chez le groupe contrôle. Le jeûne de courte durée (6H et 12H) induit une augmentation significative de la concentration plasmatique de glucose. Les valeurs augmentent de $7,4 \pm 0,8$ jusqu'à $10,6 \pm 0,5$ mmol/l ($P < 0,05$) en jeûne de 6H et de $7,4 \pm 0,8$ jusqu'à $11,2 \pm 0,7$ mmol/l ($P < 0,05$) en jeûne de 12H. La concentration plasmatique de glucose est toutefois maintenue au niveau du groupe contrôle après un jeûne de 24H.

Chez les groupes exercice, seul l'exercice de 90 min augmente de façon significative ($P < 0,05$) la valeur du glucose plasmatique, soit de $7,4 \pm 0,8$ à $10,7 \pm 1,1$ mmol/l. L'exercice d'une durée de 45 min et d'une durée de 180 min augmente le glucose plasmatique sans toutefois atteindre le seuil de signification (de $7,4 \pm 0,8$ à $9,4 \pm$

0,1 et de $7,4 \pm 0,8$ à $8,5 \pm 0,3$ mmol/l respectivement pour les groupes Ex 45 min et Ex 180 min).

Lactate

La concentration plasmatique de lactate est de $2,5 \pm 0,2$ mmol/l chez le groupe contrôle. Ce niveau n'a présenté aucune variation significative après les différentes durées de jeûne ($P > 0,05$).

En ce qui concerne les groupes exercice, la nage a induit des augmentations plus importantes de la concentration plasmatique de lactate. Les valeurs de la concentration plasmatique de lactate obtenues à la fin de l'exercice augmentent significativement ($P < 0,05$) après 45 min (de $2,5 \pm 0,2$ à $5,4 \pm 0,4$ mmol/l) et 90 min de nage (de $2,5 \pm 0,2$ à $5,5 \pm 0,4$ mmol/l). Chez le groupe Ex 180 min, la concentration plasmatique de lactate est plus élevée que le niveau du groupe contrôle ($4,0 \pm 0,6$ mmol/l) mais sans atteindre le seuil de signification.

Insuline et Glucagon

Le concentration plasmatique d'insuline est de 332 ± 32 pmol/l chez le groupe contrôle. Il diminue significativement après les trois périodes de jeûne (187 ± 32 , 150 ± 20 et 139 ± 29 pmol/l respectivement pour les groupes J6 H, J12 H et J24 H) et les trois

durées d'exercice (220 ± 9 , 153 ± 14 et 147 ± 13 pmol/l, respectivement pour les groupes Ex 45 min, Ex 90 min et Ex 180 min).

Pour ce qui est de la concentration plasmatique de glucagon, le niveau de glucagon est de 30 ± 3 pmol/l chez le groupe contrôle. Il augmente significativement ($P < 0,05$) après le jeûne 6H, 12H et 24H comme après l'exercice chez tous les groupes (90 et 180 min), à l'exception du groupe Ex 45 min.

Glycogène (tableaux 7 et 8)

Glycogène total

Dans le foie, la concentration du glycogène pour les animaux nourris est de $921 \mu\text{mol/g}$ de tissu sec (tableau 7). Le jeûne provoque une déplétion marquée ($P < 0,05$) dans les concentrations du glycogène hépatique de 44 ± 8 ; 86 ± 3 et $95 \pm 0,5$ % respectivement pour les jeûnes de 6H, 12H et 24H. La figure 10 montre que le glycogène est dégradé pour atteindre des valeurs significativement basses après seulement 6H de jeûne ($P < 0,05$). La plus grande réduction est observée après une période de jeûne de 24H où les réserves de glycogène sont presque complètement épuisées.

Dans le muscle, la concentration du glycogène pour les animaux nourris est de $167 \pm 25 \mu\text{mol unités glycosyl/g}$ de tissu sec (tableau 7). Le jeûne provoque une

déplétion marquée ($P < 0,05$) dans les concentrations du glycogène musculaire de 47 ± 7 ; 70 ± 3 et 76 ± 5 % respectivement pour les jeûnes de 6H, 12H et 24H. La figure 10 montre que le glycogène musculaire est dégradé pour atteindre des valeurs significativement basses après seulement 6H de jeûne ($P < 0,05$). La plus grande réduction est observée après une période de jeûne de 24H où la déplétion des réserves de glycogène musculaire est la plus sévère.

L'exercice diminue, tout comme le jeûne, le contenu total en glycogène musculaire et hépatique. Comparées aux valeurs du groupe contrôle (figure 9), les concentrations de glycogène hépatique (523 ± 40 ; 293 ± 66 et 139 ± 21 μmol unités glycosyl/g, respectivement pour les groupes Ex 45 min, Ex 90 min et Ex 180 min) et musculaire (90 ± 14 ; 70 ± 12 et 12 ± 4 μmol unités glycosyl/g) sont significativement inférieures ($P < 0,05$) pour chacune des durées d'exercice.

Tableau 5

Données métaboliques : groupes jeûne

Paramètres	Groupes			
	Contrôle	Jeûne 6H	Jeûne 12H	Jeûne 24H
Glucose plasmatique (mmol/l)	7,4 ± 0,8	10,6 ± 0,5 *	11,2 ± 0,7 *	7,7 ± 0,25
Lactate (mmol/l)	2,5 ± 0,2	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,4	1,8 ± 0,3
Insuline (pmol/l)	332 ± 32	187 ± 32 *	150 ± 20 *	139 ± 29 *
Glucagon (pmol/l)	30 ± 3	80 ± 4 *	86 ± 8 *	122 ± 3 *

* $P < 0,05$ comparativement au groupe contrôle**Tableau 6**

Données métaboliques : groupes exercice

Paramètres	Groupes			
	Contrôle	Exercice 45 min	Exercice 90 min	Exercice 180 min
Glucose plasmatique (mmol/l)	7,4 ± 0,8	9,4 ± 0,1	10,7 ± 1,1 *	8,5 ± 0,3
Lactate (mmol/l)	2,5 ± 0,2	5,4 ± 0,4 *	5,5 ± 0,4 *	4,0 ± 0,6
Insuline (pmol/l)	332 ± 32	220 ± 9 *	153 ± 14 *	147 ± 13 *
Glucagon (pmol/l)	30 ± 3	32 ± 2	67 ± 9 *	124 ± 8 *

* $P < 0,05$ comparativement au groupe contrôle

Tableau 7

Effets du jeûne sur les concentrations de glycogène hépatique et musculaire totales et associées aux desmoglycosomes et aux lyoglycosomes.

Glycogène		Groupes			
		Contrôle	Jeûne 6H	Jeûne 12H	Jeûne 24H
Foie	Total (μmol unités glycosyl/g tissu sec)	921 ± 18	514 ± 74	132 ± 28	48 ± 5
	Desmo	368 ± 4	169 ± 28	50 ± 15	35 ± 2
	Lyo	552 ± 4	346 ± 61	82 ± 20	13 ± 3
	Lyo	60 ± 4	67 ± 6	64 ± 6	25 ± 3
Muscle	Total (μmol unités glycosyl/g tissu sec)	167 ± 25	88 ± 11	50 ± 4	40 ± 8
	Desmo	120 ± 15	56 ± 6	36 ± 4	22 ± 5
	Lyo	46 ± 12	32 ± 6	14 ± 2	18 ± 4
	Lyo	25 ± 4	36 ± 4	27 ± 4	43 ± 3

Tableau 8

Effets de l'exercice sur les concentrations de glycogène hépatique et musculaire totales et associées aux desmoglycosomes et aux lyoglycosomes.

Glycogène			Groupes			
			Contrôle	Ex 45 min	Ex 90 min	Ex 180 min
Foie	Total (μmol unités glycosyl/g tissu sec)		921 \pm 18	523 \pm 40	293 \pm 66	139 \pm 21
	Desmo	μmol	368 \pm 4	188 \pm 26	169 \pm 38	105 \pm 16
		%	40 \pm 4	35 \pm 3	60 \pm 5	75 \pm 2
	Lyo	μmol	552 \pm 4	335 \pm 21	124 \pm 33	34 \pm 6
		%	60 \pm 4	65 \pm 3	40 \pm 5	25 \pm 2
Muscle	Total (μmol unités glycosyl/g tissu sec)		167 \pm 25	90 \pm 14	70 \pm 12	12 \pm 4
	Desmo	μmol	120 \pm 15	67 \pm 8	50 \pm 9	12 \pm 4
		%	75 \pm 4	78 \pm 6	71 \pm 2	100 \pm 0
	Lyo	μmol	46 \pm 12	22 \pm 10	20 \pm 4	0 \pm 0
		%	25 \pm 4	22 \pm 6	29 \pm 2,5	0 \pm 0

Glycogène associé aux desmoglycosomes et lyoglycosomes

Dans le foie, chez les animaux nourris, les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes sont respectivement de 368 ± 4 et 552 ± 4 μmol unités glycosyl/g de tissu sec (tableau 7). Elles diminuent significativement ($P < 0,05$) après le jeûne chez tous les groupes (tableau 7 et figure 11-B).

Dans le muscle, les valeurs chez le groupe contrôle sont de 120 ± 15 et 46 ± 12 μmol unités glycosyl/g de tissu sec pour les desmoglycosomes et les lyoglycosomes, respectivement. Le jeûne de différentes durées diminue significativement ($P < 0,05$) les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes (tableau 7 et figure 11-A). Pour les lyoglycosomes, seuls les jeûnes de 6H et de 24H réduisent significativement ($P < 0,05$) les concentrations de glycogène contenues dans cette fraction.

À l'exercice, les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes diminuent significativement ($P < 0,05$) chez tous les groupes et dans les deux tissus (tableau 8 et figures 12-A,12-B). En ce qui concerne les lyoglycosomes, dans le foie, l'exercice de différentes durées diminue significativement ($P < 0,05$) les concentrations de glycogène contenues dans les fractions lyoglycosomes (tableau 8 et figure 12-B). Toutefois, dans le muscle, seul l'exercice de 180 min provoque des

réductions significatives ($P < 0,05$) du niveau du glycogène contenu dans cette fraction (tableau 8 et figure 12-A).

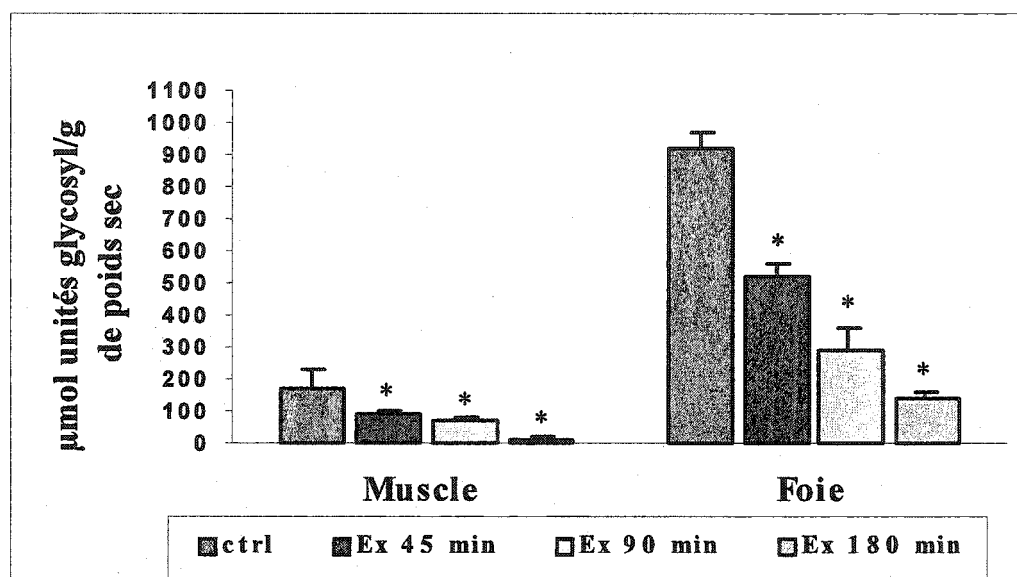


Figure 9. Effets de trois durées d'exercice (45, 90 et 180 min) sur les concentrations totales de glycogène musculaire et hépatique. * $P < 0,05$ vs groupe contrôle.

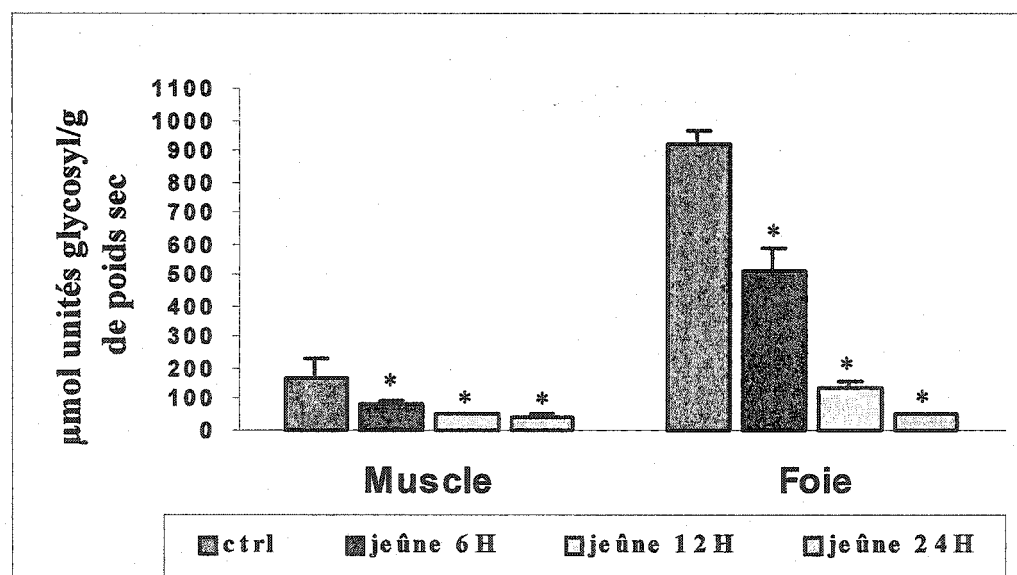


Figure 10. Effets de trois périodes de jeûne (6, 12 et 24 H) sur les concentrations totales de glycogène musculaire et hépatique. * $P < 0,05$ vs groupe contrôle.

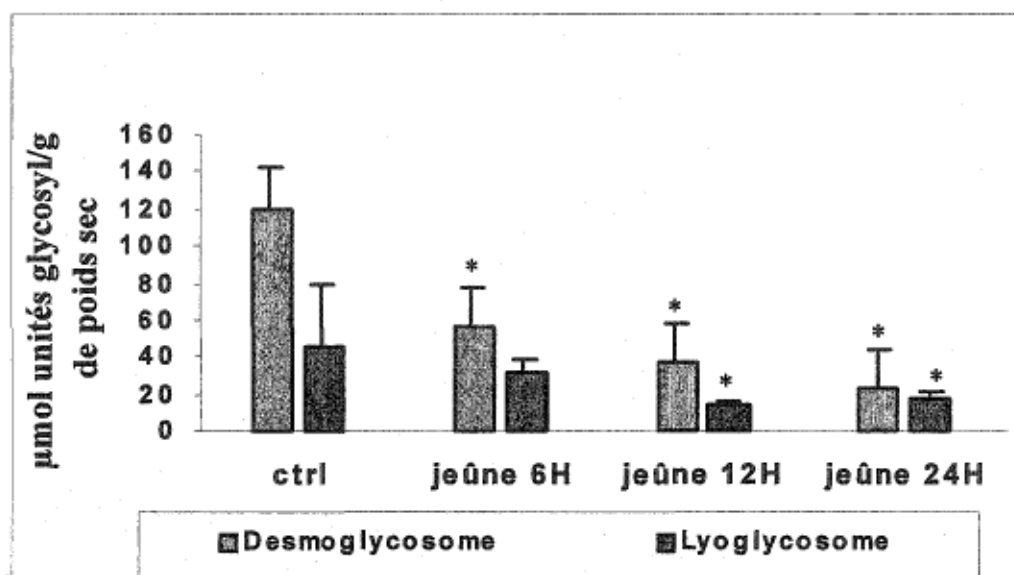


Figure 11-A. Effets de trois périodes de jeûne (6, 12 et 24H) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires. * $P < 0,05$ vs groupe contrôle.

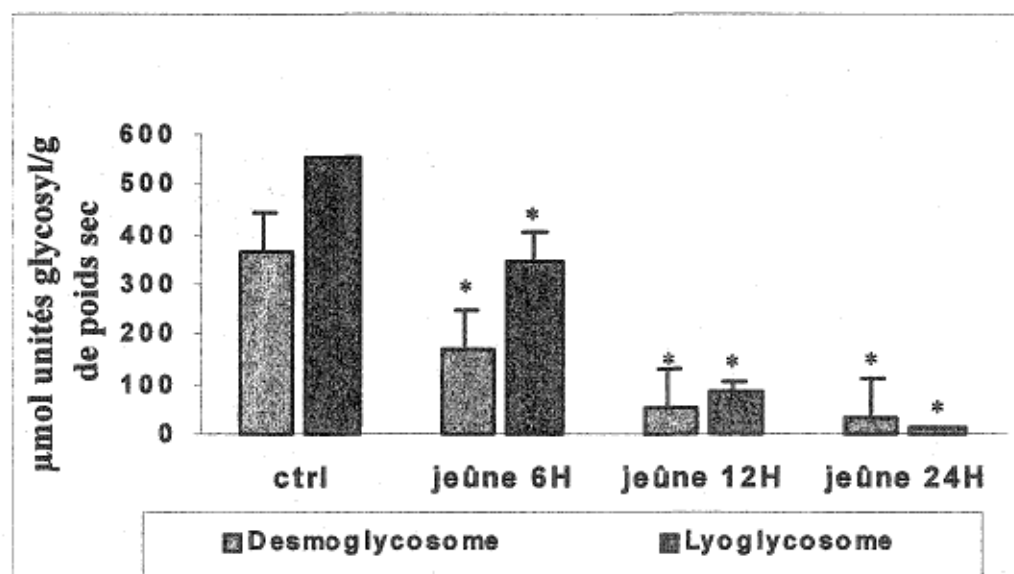


Figure 11-B. Effets de trois périodes de jeûne (6, 12 et 24H) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et les lyoglycosomes hépatiques. * $P < 0,05$ vs groupe contrôle.

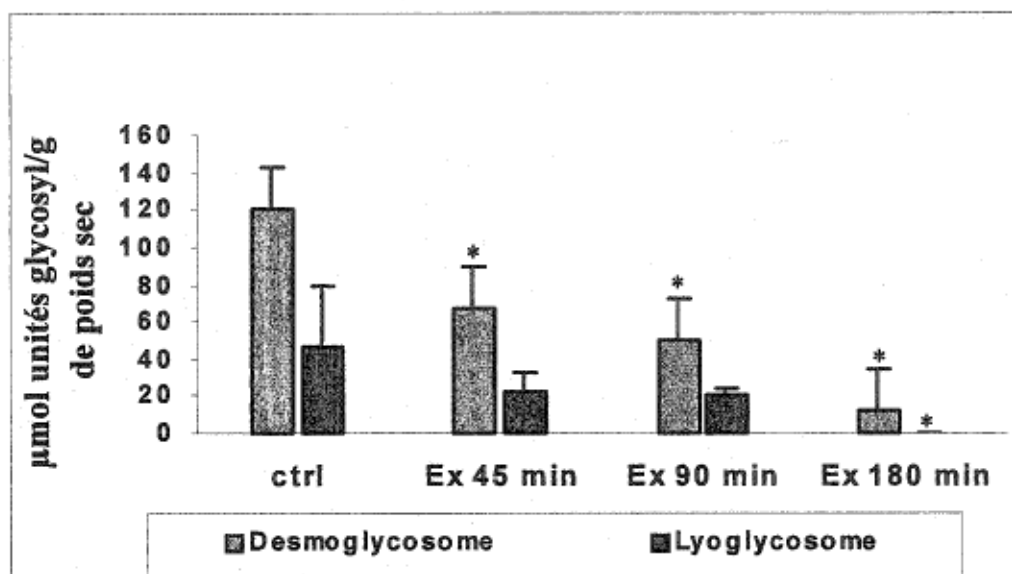


Figure 12-A. Effets de trois durées d'exercice (45, 90 et 180 min) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires. * $P < 0,05$ vs groupe contrôle

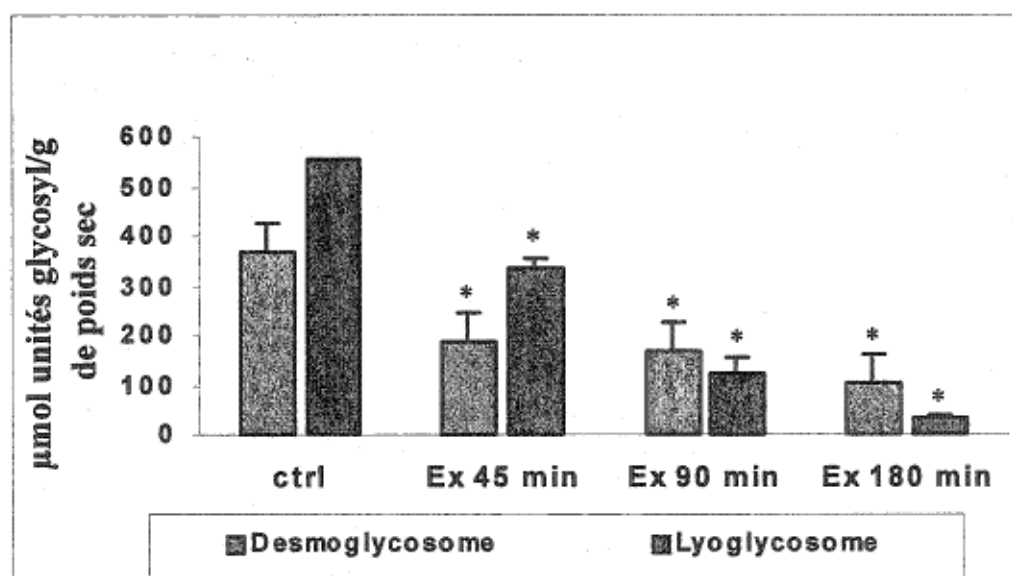


Figure 12-B. Effets de trois durées d'exercice (45, 90 et 180 min) sur les concentrations de glycogène contenues dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques. * $P < 0,05$ vs groupe contrôle.

Afin d'évaluer la glycolyse au sein de chacun des glycosomes, les concentrations de glycogène absolues utilisées des deux glycosomes ont été exprimées en pourcentage relatif à la dégradation totale du glycogène (tableaux 9 et 10).

Tableau 9

Contribution de chaque fraction à la glycolyse totale (ΔGt) durant les trois périodes de jeûne.

Utilisation relative (%)	Groupes		
	Jeûne 6H	Jeûne 12H	Jeûne 24H
Muscle			
Desmo	81,9 (7,6)*	72,2 (4,9)*	77,3 (4,6)*
Lyo	18,1 (6,6)	27,8 (4,0)	22,7 (3,9)
Foie			
Desmo	49,2 (8,1)	40,4 (6,7)*	38,2 (3,7)*
Lyo	50,8 (7,9)	59,6 (5,1)	61,8 (3,1)

* $P < 0,05$ du pourcentage utilisé de la fraction Lyoglycosome

Tableau 10

Contribution de chaque fraction à la glycolyse totale (ΔGt) durant les trois durées d'exercice.

Utilisation relative (%)	Groupes		
	Exercice 45 min	Exercice 90 min	Exercice 180 min
Muscle			
Desmo	68,8 (2,6)*	72,6 (0,7)*	70,0 (0,2)*
Lyo	31,2 (5,6)	27,4 (1,0)	30,0 (0,2)
Foie			
Desmo	45,4 (2,5)*	31,8 (2,3)*	33,7 (0,8)*
Lyo	54,6 (2,0)	68,2 (2,0)	66,3 (0,3)

* $P < 0,05$ du pourcentage utilisé de la fraction Lyoglycosome

Avec le jeûne (tableau 9), même si la concentration de glycogène total et au sein de chaque glycosome diminue avec la durée qui augmente, la contribution des desmoglycosomes à la glyco-génolyse musculaire s'avère grande $\cong > 70 \%$. Par contre dans le foie, la contribution des desmoglycosomes à la glyco-génolyse demeure inférieure à celle du muscle. Pour le foie, la contribution des desmoglycosomes est similaire à celle des lyoglycosomes avec le jeûne de 6H (tableau 9). Avec l'augmentation de la durée du jeûne, la contribution de cette dernière devient significativement ($P < 0,05$) plus importante que la contribution des desmoglycosomes, soit avec le jeûne de 12H et de 24H.

Avec l'exercice, le tableau 10 montre que, tout comme dans le cas du jeûne, la contribution des desmoglycosomes à la glyco-génolyse musculaire est significativement ($P < 0,05$) plus importante que la glyco-génolyse des lyoglycosomes avec l'exercice de différentes durées. Dans le foie, la contribution des lyoglycosomes s'avère supérieure ($P < 0,05$) avec les différentes durées d'exercice (tableau 10).

Rapport desmoglycosomes / lyoglycosomes

Chez le groupe contrôle, une concentration plus importante de glycogène associée aux lyoglycosomes qu'aux desmoglycosomes a été mesurée dans le foie ($P < 0,05$). Au contraire, dans le muscle plus de glycogène est associé aux desmoglycosomes qu'aux lyoglycosomes ($P < 0,05$). Le rapport [glycogène contenu dans les desmoglycosomes] : [glycogène contenu dans les lyoglycosomes] est de 40 : 60 pour le

foie. Ce rapport change avec la durée du jeûne (figure 13-B) passant de 40 : 60 à 33 : 67 après un jeûne de 6H, à 36 : 64 après un jeûne de 12H et à 75 : 25 après un jeûne de 24H ($P < 0,05$).

Dans le muscle, le rapport [glycogène contenu dans les desmoglycosomes] : [glycogène contenu dans les lyoglycosomes] est de 75 : 25 chez le groupe contrôle. Ce rapport change avec la durée du jeûne (figure 13-A) passant de 75 : 25 à 64 : 36 après un jeûne de 6H, à 72 : 27 après un jeûne de 12H et à 57 : 43 après un jeûne de 24H ($P < 0,05$). Seul le jeûne de 24H affecte significativement ce rapport.

Le rapport [glycogène contenu dans les desmoglycosomes] : [glycogène contenu dans les lyoglycosomes] varie aussi avec l'exercice dans les deux tissus (figures 14-A et 14-B). Dans le foie, il passe de 40 : 60 à 35 : 65 après un exercice de 45 min et s'inverse avec l'exercice 90 et 180 min, passant respectivement de 40 : 60 à 60 : 40 ($P < 0,05$) et 75 : 25 ($P < 0,05$). Dans le muscle, le rapport passe de 75 : 25 à 78 : 22 après un exercice de 45 min, à 71 : 29 après un exercice de 90 min et à 100 : 00 après un exercice de 180 min ($P < 0,05$). Ces résultats montrent qu'à l'exercice, l'exercice de 90 et 180 min inversent significativement le rapport [glycogène contenu dans les desmoglycosomes] : [glycogène contenu dans les lyoglycosomes] dans le foie et seul l'exercice de 180 min affecte ce rapport dans le muscle. davantage de glycogène est devenu associé aux desmoglycosomes et aux lyoglycosomes respectivement dans le foie et le muscle.

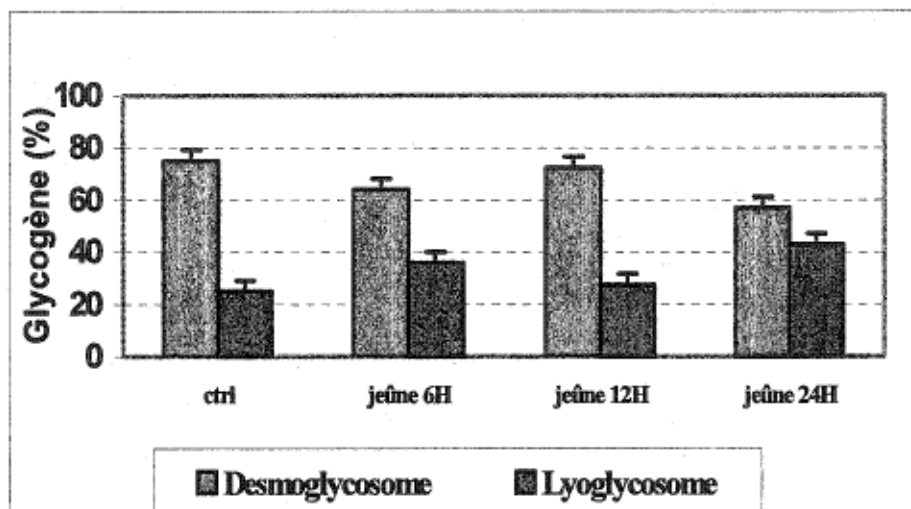


Figure 13-A. Effets du jeûne sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires exprimée en pourcentage du glycogène total.

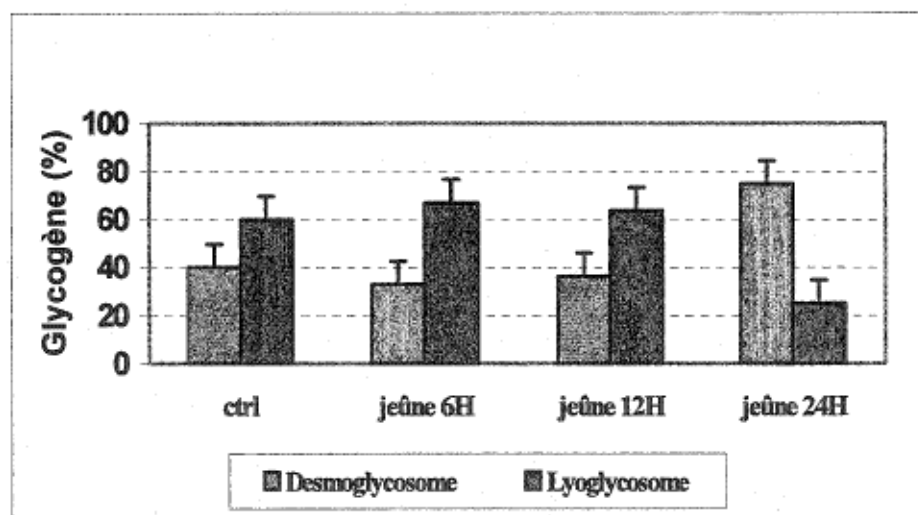


Figure 13-B. Effets du jeûne sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques exprimée en pourcentage du glycogène total.

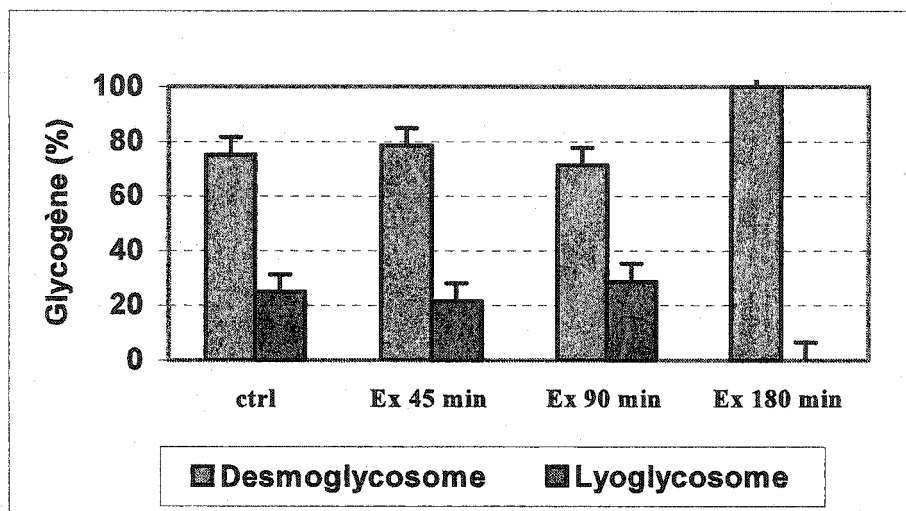


Figure 14-A. Effets de l'exercice sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes musculaires exprimée en pourcentage du glycogène total.

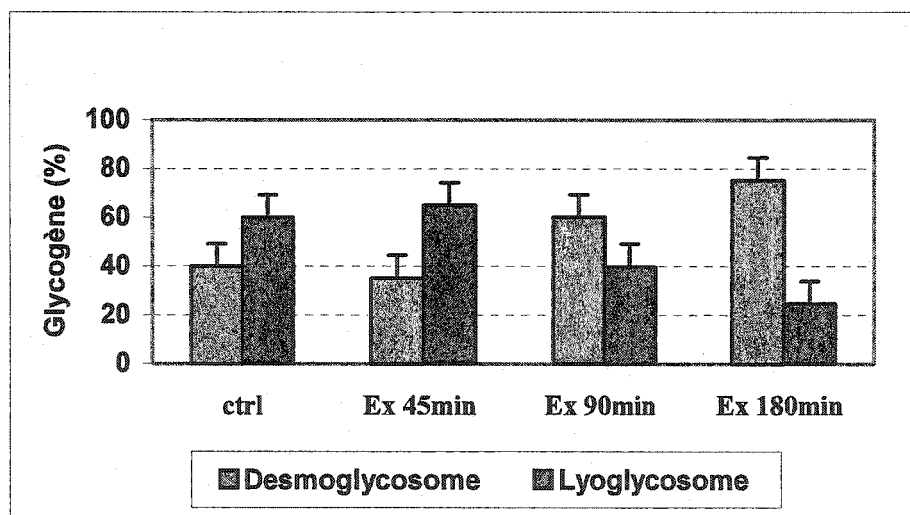


Figure 14-B. Effets de l'exercice sur la compartimentation du glycogène entre desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques exprimée en pourcentage du glycogène total.

CHAPITRE V

DISCUSSION

L'objectif de cette étude était d'examiner l'effet de différentes durées de jeûne et d'exercice sur la compartimentation du glycogène hépatique et musculaire. Spécifiquement, nous avons suivi la contribution du glycogène contenu dans les fractions desmoglycosomes et lyoglycosomes à la glycogénolyse musculaire et hépatique. À ce jour, aucune donnée n'est disponible sur l'effet du jeûne et de l'exercice sur la compartimentation du glycogène dans les desmoglycosomes et les lyoglycosomes au niveau du foie et très peu au niveau musculaire. Cette étude est la première à documenter la cinétique de la compartimentation du glycogène hépatique et musculaire chez le rat. Les résultats majeurs de la présente étude sont les suivants :

- 1) La déplétion du glycogène total augmente avec la durée du jeûne et de l'exercice et ce dans le foie et le muscle.
- 2) Les deux glycosomes contribuent simultanément à la glycogénolyse. Le glycogène de la fraction lyoglycosome est préférentiellement dégradé dans le foie comparativement à celui de la fraction desmoglycosome. Dans le muscle, c'est la contribution du glycogène de la fraction desmoglycosome qui s'avère la plus importante.
- 3) Un changement de compartimentation du glycogène associé aux desmoglycosomes et lyoglycosomes hépatiques et musculaires est observé suite

au jeûne et à l'exercice. Ce changement est plus marqué avec le jeûne de 24 heures et l'exercice de 180 min.

Le jeûne et l'exercice de différentes durées induisent une réduction des réserves de glycogène hépatique et musculaire, comme il a été montré par des études antérieures (Calder et Geddes, 1992; Gunderson et al., 1996; Leander, Mansson et Pettersson, 2000; Dohm, Tapscott, Barakat et Kasperek, 1983; Melançon et al., 2004; O'Doherty, Anderson, Zhao, Bornfeldt et Newgard, 1999; Reikeras, Nordstrand et Henden, 1988). Bien que certaines études ont indiqué que le glycogène musculaire n'est pas significativement influencé par le jeûne (Russel et Bloom, 1956, McGilvery, 1979), nos résultats et ceux de récentes études (Calder et Geddes, 1992; Conlee, Rennie et Winder, 1976; Holness, Schuster-Bruce et Sugden, 1988; Dohm et al., 1983; Reikeras et al., 1988) ont montré que le glycogène musculaire est significativement et substantiellement réduit sous l'effet du jeûne.

La réduction de la concentration de glycogène totale dans le foie et dans le muscle observée chez les groupes jeûne et exercice s'accompagne d'une réduction du glycogène dans les deux glycosomes (tableaux 7, 8 et figures, 11-A, 11-B, 12-A, 12-B). En valeur absolue et en valeur relative par rapport à la concentration totale de glycogène ou à la concentration totale de glycogène utilisée, le glycogène de la fraction desmoglycosome est celui qui contribue le plus à la glycogénolyse musculaire et ce, avec le jeûne et l'exercice (tableaux 9 et 10). Au contraire, dans le foie c'est le

glycogène des fractions lyoglycosomes qui contribue plus à la glycogénolyse. Ces résultats concordent avec les études antérieures réalisées dans le muscle squelettique chez les humains où le glycogène des fractions desmoglycosomes est le plus sollicité et contribue le plus à la glycogénolyse, quand il est exprimé en relation à la dégradation totale de glycogène durant un exercice intense (Graham et al., 2001) et un exercice sous-maximal (Shearer et al., 2001). De plus, nos résultats concordent aussi avec ceux de Bogdanis et al. (1995, 1996, 1998); Nevill, Boobis et Williams (1989) et Gaitanos, Williams, Boobis et Brooks (1993). Ces dernières études ont montré que la dégradation du glycogène des desmoglycosomes et des lyoglycosomes dépend, en plus de la concentration initiale du glycogène dans chaque fraction, de l'intensité et de la durée de l'exercice.

Chez le rat, une étude récente (Derave et al., 2000) a montré des différences dans le catabolisme du glycogène contenu dans les deux glycosomes, avec plusieurs concentrations totales initiales de glycogène musculaire. Dans cette étude, le glycogène des fractions desmoglycosomes est le contributeur majeur de la glycogénolyse lorsque le niveau du glycogène musculaire diminue de normal à faible. Dans le muscle, quand le glycogène contenu dans ces fractions augmente, le taux relatif de son catabolisme augmente lui aussi (Derave et al., 2000). Les résultats de cette étude ont aussi montré que le glycogène des fractions desmoglycosomes et des fractions lyoglycosomes deviennent deux substrats à contribution équitable pour la réaction de la glycogène phosphorylase quand ils sont exprimés relativement à leur concentration de départ

(Derave et al., 2000). La prudence est cependant de mise dans l'interprétation des résultats des travaux cités ci dessus, prenant en considération la méthode utilisée pour évaluer la contribution du glycogène contenu dans chaque glycosome à la glycogénolyse. Tel que rapporté dans notre étude, Shearer et Graham (2002) ont noté que, dans neuf études évaluant le catabolisme du glycogène musculaire dans chaque glycosome, le glycogène contenu dans les desmoglycosomes est dégradé à plus grande échelle que le glycogène contenu dans les lyoglycosomes lorsqu'il est exprimé en relation avec la concentration totale de glycogène. Toutefois, la participation de chacun des glycosomes à la glycogénolyse devient contraire quand les contributions sont exprimées en fonction des concentrations initiales de glycogène dans chaque fraction (Shearer et Graham, 2002). Dans notre étude, indépendamment de la méthode de calcul utilisée (en valeur relative à la concentration totale de glycogène ou en valeur relative à la dégradation totale de glycogène ΔGt), dans le muscle la glycogénolyse demeure plus importante dans les desmoglycosomes ($\cong > 70 \%$). De même, dans le foie la glycogénolyse dans les lyoglycosomes demeure prédominante (tableaux 9 et 10).

Les proportions relatives de glycogène contenues dans les deux fractions, respectivement pour les desmoglycosome et les lyoglycosomes, sont de 75% et 25% dans le muscle et 40% et 60% dans le foie. Les études qui ont exploité le muscle chez l'humain (Adamo et Graham, 1998; Adamo et al., 1998) et chez le rat (Derave et al., 2000) ont révélé que ces proportions sont dépendantes de la concentration totale du glycogène dans les tissus. Le rapport glycogène contenu dans les desmoglycosomes :

glycogène contenu dans les lyoglycosomes n'est pas constant. Quand la concentration totale de glycogène augmente dans le muscle, le pourcentage relatif de glycogène contenu dans les fractions lyoglycosomes augmente, tandis que la proportion relative du glycogène des fractions desmoglycosomes diminue (Adamo et Graham, 1998; Adamo et al., 1998; Brojer, Staempli et Graham, 2002a). Le niveau de glycogène contenu dans chaque glycosome diffère aussi selon l'espèce, l'état nutritionnel (à jeun ou nourri) et la variation alimentaire interindividuelle (Adamo et al., 1998; Rosenvold, Essen-Gustavsson et Andersen, 2003). Toutefois, tout comme chez Adamo et collaborateurs, nos résultats indiquent que la quantité de glycogène contenue dans les lyoglycosomes est proportionnelle à la quantité totale de glycogène dans le tissu. Cette relation apparaît plus claire dans le foie qui contient plus de glycogène associé aux fractions lyoglycosomes (60%) que dans le muscle. Ceci peut être expliqué par des concentrations totales de glycogène qui dépassent 900 μmol unités glycosyl/g de tissu sec.

Dans le muscle, chez le groupe contrôle, la proportion de glycogène contenue dans les lyoglycosomes rapportée dans notre étude, comparable à celle trouvée chez les humains, est légèrement plus élevée par comparaison à la moyenne rapportée chez le rat (10 à 15%). Ceci peut être dû à l'effet de l'heure du sacrifice sur les concentrations totales de glycogène. En effet, chez le rat, le cycle circadien a une grande influence sur la concentration totale de glycogène mis en réserve dans les tissus. Ces réserves fluctuent durant la journée, avec un maximum trouvé chez les animaux sacrifiés pendant la matinée (Clark et Conlee, 1979; Conlee et al., 1976). Cette fluctuation des réserves de

glycogène est due à la variation de la consommation de la nourriture entre les différentes périodes de la journée (Cohn et Joseph, 1971; Fuller et Diller, 1970), comme il a été montré dans notre étude (tableau 2). Dans notre protocole, les rats ont été sacrifiés entre 8:00 et 11:00 pour être le plus près de la fin de l'ingestion. Dans cette période, la concentration totale de glycogène contenue dans les muscles et le foie est la plus élevée de la journée (Clark et Conlee, 1979; Conlee et al., 1976), ce qui explique une proportion de glycogène des lyoglycosomes musculaire légèrement plus élevée que les moyennes rapportées chez le rat.

La majorité des études d'exercice ont employé la course sur tapis roulant et sur ergocycle pour les études chez l'humain (Bogdanis et al., 1996, 1998; Gaitanos et al., 1993; Nevill et al., 1989; Shearer et al., 2001; Graham et al., 2001) et l'électrostimulation chez le rat et le lapin (Derave et al., 2000; Prats et al., 2002). Le modèle d'exercice choisi dans notre protocole est la nage. Ce modèle international est très utilisé pour l'exercice des petits animaux de laboratoire, à l'exemple du rat dans notre étude. Il a plusieurs avantages par comparaison à d'autres types d'exercice (Kramer, Dijkstra et Bast, 1993; Szygula, 1990; Yalcin, Bor-Kucukatay, Senturk et Baskurt, 2000). D'abord, l'intensité du travail durant l'exercice de nage est plus grande que celle pour l'exercice de course, pour des durées égales. Un autre avantage cité est que les stimulations négatives utilisées pour développer la course ne sont pas utilisées durant la nage (Kramer et al., 1993; Yalcin et al., 2000). De plus, la course sur tapis roulant peut avoir un effet nuisible sur les globules rouges en raison des impacts du pied,

ce qui n'advient pas en natation (Szygula, 1990; Yalcin et al., 2000). Peu importe le modèle d'exercice, il est cependant important de choisir les muscles les plus sollicités par le modèle d'exercice appliqué. Dans notre protocole nous avons étudié le rectus femoris. En plus d'être un muscle très sollicité dans la nage, le rectus femoris est un muscle homogène dans sa composition en fibres lentes et rapides. Cette homogénéité nous permet d'éviter les différences entre la concentration de glycogène associée aux deux glycosomes dans les fibres lentes et rapides, qui influencent le rapport de glycogène contenu dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes (Prats et al., 2002). D'autre part, la canulation de la veine jugulaire des animaux une semaine avant exercice permet de réduire considérablement le délai entre le moment de l'injection de l'anesthésiant, l'effet de l'anesthésiant et le prélèvement des tissus. Cette procédure nous permet également d'observer les paramètres physiologiques étudiés, qui se rapprochent le plus possible de ce qui se passe à l'exercice et d'éviter par le fait même toute période de récupération susceptible de modifier les résultats. Les tissus ont tous été recueillis dans un délai de moins de trois minutes après l'exercice, éliminant ainsi la contribution de la resynthèse de glycogène dans les deux glycosomes. Bangsbo et collaborateurs (1991, 1994, 1997) ont montré que la resynthèse de glycogène s'amorce dès 10 min en post exercice .

Il est clair d'après les résultats de la présente étude que le glycogène des desmoglycosomes et celui des lyoglycosomes (figures 11-A, 11-B, 12-A, 12-B) ne sont pas dégradés au même degré que leurs proportions initiales, et ce dans le muscle et le

foie. Si le glycogène dans les deux fractions était dégradé au même degré que les proportions initiales, il devait respecter alors les rapports [glycogène contenu dans les desmoglycosomes] : [glycogène contenu dans les lyoglycosomes] = 75 : 25 et 40 : 60, respectivement dans le muscle et le foie, et ce avec le jeûne et l'exercice. Les données présentées dans les tableaux 9 et 10 montrent que la régulation est plus complexe. Le taux relatif de la dégradation de glycogène contenu dans les desmoglycosomes et lyoglycosomes ne respecte pas les rapports initiaux de glycogène dans les deux glycosomes, comme il a été montré par les travaux de Gaitanos et al. (1993), Graham et al. (2001), Shearer et al. (2001) sur le muscle squelettique chez l'Homme. Toutefois, il apparaît que la concentration initiale de glycogène contenue dans les deux glycosomes est l'un des facteurs régulateurs de la glycogénolyse dans les conditions de notre étude, mais ce n'est pas le facteur déterminant. Dans les différents groupes, le glycogène des fractions desmoglycosomes est toujours préférentiellement dégradé dans le muscle. Dans le foie, c'est la dégradation du glycogène des fractions lyoglycosomes qui domine. Cette dégradation préférentielle du glycogène des desmoglycosomes dans le muscle et du glycogène des lyoglycosomes dans le foie suggère que ces deux fractions pourraient être régulées différemment dans les deux tissus. À ce stade, les mécanismes de régulation du muscle et du foie avec le jeûne et l'exercice restent à être investigués.

Bien que cette étude a montré que le catabolisme des deux glycosomes est régulé différemment selon le tissu et que le desmoglycosome est le plus dynamique dans le muscle (le lyoglycosome dans le foie), notre technique employée nous limite à la

détermination de la compartimentation, mais ne nous permet pas de décrire le type de glycogène utilisé dans chaque glycosome. Un grand débat existe sur des aspects fondamentaux, à savoir si le proglycogène (400kDa) représente une entité séparée ou une molécule discrète différente de glycogène, tel que proposé par Lomako et al., en 1993 et en 1995, ou s'il fait partie d'un continuum de la formation de petites particules de glycogène à partir de la molécule d'amorce, la glycogénine, jusqu'à la molécule de glycogène mature (macroglycogène), tel que montré par Skurat et al. (1997) et Marchand et al. (2002). Les données de notre étude ne dépendent pas de la nature même du glycogène contenu dans les deux glycosomes et ne peuvent donc pas, à ce stade, supporter ces controverses. D'ailleurs nos techniques employées permettent de séparer les deux fractions selon leur attachement (desmoglycosomes) ou non (lyoglycosomes) aux composantes intracellulaires et non à la nature du glycogène (proglycogène et macroglycogène). Le type de glycogène peut être séparée uniquement par électrophorèse variant selon leur poids moléculaire, tel que suggéré par Lomako et al. (1991). Nous supportons plutôt, dans notre laboratoire, la théorie des glycosomes permettant l'identification des deux fractions intracellulaires de glycogène selon le modèle de Rybicka (1996), confirmé à la fois par les études biochimiques et par la microscopie électronique. Plusieurs données nous portent à accréditer ce type de compartimentation. Premièrement, selon Alonzo et collaborateurs (1995b), la fraction insoluble à l'acide correspondrait à seulement 3% du glycogène hépatique et à une faible concentration de la glycogénine (0,35% du poids du foie), ce qui ne concorde pas avec les résultats trouvés dans notre étude où nous avons mesuré une proportion de 40%

de la fraction insoluble à l'acide (tableaux 7 et 8), des résultats compatibles avec ceux de Drouin et collaborateurs (2004). Deuxièmement, les particules de glycogène ont un poids moléculaire théorique compris entre celui de la glycogénine (37 kDa) et la particule mature de glycogène. Considérant qu'une molécule complète de glycogène ou une particule β a un poids moléculaire de 10^7 kDa, le poids moléculaire de la glycogénine correspondra donc à 0,35% de celui de la particule β , en considérant un ratio [glycogénine] : [particule β] égal à 1 (Hansen et al., 2000). Le proglycogène ne semble donc pas une fraction distincte du glycogène mais représente une progression dans la synthèse de glycogène compris à l'intérieur des glycosomes. Ainsi, le proglycogène qu'Alonzo et ses collègues (1995b) ont isolé par la technique de solubilité à l'acide correspondrait aux desmoglycosomes et le macroglycogène aux lyoglycosomes identifiés par Rybicka (1996).

Dans le muscle à l'état normal de repos, le ratio du poids moléculaire [proglycogène] : [macroglycogène] est égal à 8 : 1 et ceci, dans les trois types de fibres musculaires (Hansen et al., 2000). Considérant un poids moléculaire de 400 kDa pour le proglycogène et de 10^7 kDa pour le macroglycogène, il a été possible de calculer que, si tout le proglycogène devait être converti en macroglycogène, la quantité de glycogène totale théorique serait d'environ 600 μmol par g de tissu humide, ce qui est 3 à 4 fois plus élevée que la valeur mesurée dans le muscle squelettique chez le rat (Richter, Hansen et Hansen, 1988). Ainsi, si on considère que le nombre de glycogénines est constant, la taille moyenne du proglycogène augmente avec le niveau de glycogène car

la concentration de proglycogène en valeur absolue augmente aussi (Hansen et al., 2000). Ceci permet d'affirmer que le proglycogène, considéré comme un intermédiaire stable qui n'est jamais dégradé jusqu'au niveau de la glycogénine (Alonzo et al., 1995b), ne représentait pas une fraction distincte (400kDa) de la molécule, mais plutôt une étape dans la formation de la molécule mature de glycogène (macroglycogène) contenu dans les deux types de glycosomes.

D'autres rapports récents (Roach, 2000; Roach et al., 1998; Roach et al., 2001; Skurat et al., 2000) étayaient nos arguments et remettent aussi en question l'hypothèse selon laquelle le proglycogène serait une fraction distincte de la particule de glycogène. Le débat reste encore ouvert (Lomako et al., 2004). Les apports des futures études seront les seuls déterminants pour trancher cette controverse et pour enrichir notre compréhension de la différence possible de régulation du métabolisme du glycogène dans chaque glycosome.

Une nouvelle information apportée par cette étude, à part l'utilisation préférentielle du glycogène de l'un ou de l'autre des deux glycosomes, est un changement de compartimentation, c'est-à-dire un changement de la proportion de glycogène associée aux desmoglycosomes et aux lyoglycosomes, avec le jeûne et l'exercice (tableaux 7, 8 et figures 13-A, 13-B, 14-A, 14-B). Une augmentation de proportion de glycogène associée aux desmoglycosomes a été observée dans le foie suite au jeûne de 24H et l'exercice d'une durée de 180 min. Dans le muscle, plus de

glycogène s'associe aux fractions lyoglycosomes. Une inter conversion d'unités glycosyl entre les deux fractions semble expliquer les changements de compartimentation dans ces différents états physiologiques. En effet, les réserves de glycogène ne sont pas statiques, mais elles sont continuellement renouvelées sous l'action du glycogène synthétase et du glycogène phosphorylase (Bonen, McDermott et Hutber, 1989; Bonen, McDermott et Tan, 1990; Shearer et Graham, 2002). Déjà, Alonzo et ses collègues (1995b) ont suggéré que, dans des conditions normales, les résidus de glucose oscillent entre les fractions solubles et insolubles. Plus tard, Huang et ses collaborateurs (1997) ont étudié ce processus dans le muscle squelettique du lapin. Ils ont suivi du glucose marqué dans trois conditions : sous des conditions de base, glucose + infusion d'insuline et sous stimulation à l'insuline. Cette étude est la première à montrer que, dans des conditions normales, la majorité du glucose marqué se trouvait dans les desmoglycosomes, ce qui infirme l'hypothèse de la présence d'un renouvellement entre les deux fractions. Par contre, toujours dans le muscle squelettique, sous stimulation à l'insuline, la distribution du glucose marqué entre les deux glycosomes était équitable, ce qui suggère un échange entre les deux fractions de glycogène quand les conditions favorisent un taux élevé d'insuline (Huang, Lee, Lin et Chen, 1997). Selon Shearer et Graham (2002), l'échange entre les deux fractions peut se faire seulement quand les réserves de glycogène ou le niveau d'insuline sont élevés. Dans notre étude, les données présentées dans les tableaux 7, 8 et illustrés par les figures 13-A, 13-b, 14-A et 14-B montrent que les plus importants changements de compartimentation ont été observés chez les groupes, où la déplétion de glycogène était

très importante et où le niveau d'insuline était très faible, soit les groupes jeûne 24H et exercice 180 min. Il est bien clair que des facteurs autres que ceux cités par les autres équipes (Graham et al., 2001; Shearer et al., 2001; Shearer et Graham, 2002), par exemple l'entraînement, la composition des fibres et l'alimentation, influencent la relation entre les deux fractions de glycogène.

Bien que ce concept de compartimentation du glycogène soit depuis plusieurs années un constat accepté par le milieu scientifique, les mécanismes qui sous-tendent cette répartition et son implication physiologique en sont encore méconnus. Il a été suggéré que la combinaison du glycogène musculaire avec les desmoglycosomes était métaboliquement plus active que celle avec les lyoglycosomes (Calder et al., 1986). Notre équipe a observé, suite à un programme d'entraînement en endurance d'une durée de huit semaines, une plus grande association du glycogène hépatique aux desmoglycosomes en même temps qu'une diminution du glycogène associé aux lyoglycosomes (Drouin et al., 2004). Une augmentation de la disponibilité du glycogène hépatique suite à l'exercice chronique a été suggérée. Dans le cas du jeûne et l'exercice aigu, les données recueillies dans notre étude demeurent encore descriptives. Donc, à ce stade, aucune explication de ce changement de répartition de glycogène entre les deux glycosomes ne peut être avancée. Dans un effort pour identifier les mécanismes de cette compartimentation suite au jeûne et l'exercice aigu, nous avons mesuré quelques hormones et quelques métabolites dans le sang qui sont connus pour influencer le métabolisme du glycogène. Les données, cependant, ne permettent de fournir aucune

explication claire des changements obtenus au niveau de la compartimentation du glycogène entre les deux glycosomes. La concentration plasmatique de glucose est demeurée relativement stable suite au jeûne de 24H et suite à l'exercice 180 min, associée avec une augmentation de la concentration plasmatique de glucagon et une diminution de la concentration plasmatique d'insuline. Donc, même si le glycogène change de répartition entre les deux glycosomes, il participe bien au maintien de l'homéostasie glucidique. D'autres études sont nécessaires pour comprendre l'implication physiologique de cette compartimentation.

Le glycogène contenu dans les fractions desmoglycosomes et celui contenu dans les fractions lyoglycosomes ont été séparés par exposition du tissu à l'acide perchlorique froid 1,5 M pendant 20 min. Cette concentration et ce temps d'extraction ont été utilisés dans les études chez le rat (Derave et al., 2000; Drouin et al., 2004; Hansen et al., 2000), le lapin (Prats et al., 2002), le cheval (Brojer et al., 2002a; Brojer et al., 2002b), le porc (Rosenvold et al., 2003) et le muscle squelettique chez l'humain (Adamo et Graham, 1998; Adamo et al., 1998; ASP et al., 1999; Battram, Shearer, Robinson et Graham, 2004; Graham et al., 2001; Shearer et al., 2001). Malgré que certains auteurs considèrent que les deux fractions représentent simplement un artefact de la procédure d'extraction (Meyer et Lourau, 1956; Roe et al., 1961; Stetten et Stetten, 1951), plusieurs études antérieures ont toutefois montré que les deux glycosomes existent bel et bien et que la relation entre ces deux fractions n'est pas un artefact influencé par le type de l'acide utilisé (PCA vs TCA), la concentration du PCA (entre 0,5M et 3M), le poids de

l'échantillon (0,2-2mg) ou par la procédure de lyophilisation (Brojer, Staempli et Graham, 2002c; Jansson, 1981). Dans notre étude, nous avons utilisé une concentration de 1,5 M et une durée d'extraction de 20 min, ce qui représente des conditions standards de la technique de séparation. Dans ces conditions, il n'y a aucune évidence montrant que la technique génère un artefact qui change les concentrations de glycogène dans les deux fractions (Brojer et al., 2002c; Jansson, 1981; Shearer et Graham, 2002). En conséquence, la séparation de ces deux glycosomes est d'un grand intérêt et une importance biologique doit lui être accordée, puisque chaque fraction présente différents taux de synthèse, de dégradation et de sensibilité à l'ingestion des glucides (Adamo et al., 1998; Graham et al., 2001; Shearer et al., 2001, Shearer et Graham, 2002). Cette technique d'extraction peut être employée pour étudier la régulation entre les deux glycosomes dans différentes conditions nutritionnelles, plusieurs types d'exercice aussi bien que certaines déficiences métaboliques associées à la mise en réserve du glycogène. En plus, cette méthode nous permet d'obtenir des données sur les concentrations totales de glycogène ainsi que les concentrations de glycogène contenues dans chaque glycosome et ceci à partir du même tissu, ce qui élimine les variations dues aux différentes portions de tissu utilisées (Adamo et Graham, 1998; Brojer et al., 2002b).

CONCLUSION

En conclusion, peu est connu sur l'implication fonctionnelle de la compartimentation du glycogène dans les deux glycosomes au niveau du foie et du muscle squelettique. Cette étude a décrit le catabolisme du glycogène sous différentes circonstances de demande énergétique, en tenant compte pour la première fois de cette compartimentation. Les données présentes montrent une différence de répartition du glycogène dans les deux glycosomes, qui évolue selon la durée du jeûne et de l'exercice, et que le glycogène dans le tissu est préférentiellement dégradé de la fraction où la concentration de glycogène initiale est supérieure. Le glycogène de la fraction lyoglycosome est préférentiellement dégradé durant l'exercice de nage et en privation de nourriture dans le foie. Dans le muscle, la déplétion est toujours plus importante dans la fraction desmoglycosome. Plus encore, nos résultats supportent les études antérieures suggérant que le desmoglycosome et le lyoglycosome sont deux fractions de glycogène qui diffèrent au niveau fonctionnel. D'autres études sur la localisation et la régulation des deux fractions dans le foie et le muscle sont nécessaires pour obtenir une compréhension fondamentale de cette différence de compartimentation et de régulation métabolique entre les deux fractions.

PERSPECTIVES D'AVENIR

Le secteur de recherche que nous avons choisi, malgré d'excellentes études publiées pendant la dernière décennie, reste un domaine d'étude pertinent et les recherches doivent s'y poursuivre, notamment pour une meilleure compréhension de l'organisation intracellulaire du glycogène. Dans nos projets d'avenir, nous allons poursuivre la caractérisation de l'hétérogénéité du glycogène hépatique et musculaire par la combinaison des techniques de microscopie optique et ``pulse chase`` par traçage isotopique afin de décrire l'importance fonctionnelle de l'hétérogénéité du glycogène dans des situations physiologiques et pathophysiologiques, comprendre leur régulation et décrire pour la première fois les mécanismes qui sous-tendent la répartition du glycogène entre les deux glycosomes. Il serait intéressant également après cette étude de suivre dans le temps, par marquage isotopique, la redistribution du glycogène contenu dans les deux fractions chez des rats nourris suite à une période de jeûne ou d'exercice.

RÉFÉRENCES

- Adamo, K. B. et Graham, T. E. (1998). Comparison of traditional measurements with macroglycogen and proglycogen analysis of muscle glycogen. *Journal of Applied Physiology*, 84, 908-913.
- Adamo, K. B., Tarnopolsky, M. A. et Graham, T. E. (1998). Dietary carbohydrate and postexercise synthesis of proglycogen and macroglycogen in human skeletal muscle. *American Journal of Physiological and Endocrinological Metabolism*, 275, 229-234.
- Alonzo, M. D., Lagzdins, E. J., Lomako, J., Lomako, W. M. et Whelan, W. J. (1995a). New and specific nucleoside diphosphate glucose substrates for glycogenin. *FEBS Letters*, 359, 110-112.
- Alonzo, M. D., Lomako, J., Lomako, W. M. et Whelan, W. J. (1995b). A new look at the biogenesis of glycogen. *FASEB Journal*, 9, 1126-1137.
- Asp, S., Daugaard, J. R., Rohde, T., Adamo, K. B. et Graham, T. E. (1999). Muscle glycogen accumulation after a marathon: Roles of fiber type and pro-and macroglycogen. *Journal of Applied Physiology*, 86, 474-478.
- Babcock, M. B et Cardell, R. R. (1975). Fine structure of hepatocytes from fasted and fed rats. *American Journal of Anatomy*, 143, 399-438.
- Bangsbo, J., Gollnick, P. D., Graham, T. E. et Saltin, B. (1991). Substrates for muscle glycogen synthesis in recovery from intense exercise in man. *Journal of Physiology*, 434, 423-440.
- Bangsbo, J., Graham, T., Johansen, L. et Saltin, B. (1994). Muscle lactate metabolism in recovery from intense exhaustive exercise : impact of light exercise. *Journal of Applied Physiology*, 77, 1890-1895.
- Bangsbo, J., Madsen, K., Kiens, B. et Richter, E. A. (1997). Muscle glycogen synthesis in recovery from intense exercise in humans. *American Journal of Physiological and Endocrinological Metabolism*, 273, 416-424.
- Barber, A. A., Orrell, S. A. et Bueding, E. B. (1967). Association of enzymes with rat liver glycogen isolated by rate-zonal centrifugation. *Journal of Biological Chemistry*, 242, 4040-4044.

Bartley, W. et Dean, B. (1968). Extraction and estimation of glycogen and oligosaccharides from rat heart. *Analytical Biochemistry*, 25, 99-108.

Batram, D. S., Shearer, J., Robinson, D. et Graham, T. E. (2004). Caffeine ingestion does not impede the resynthesis of proglycogen and macroglycogen after prolonged exercise and carbohydrate supplementation in humans. *Journal of Applied Physiology*, 96, 943-50.

Bernard, C. I. (1957). Sur le mécanisme physiologique de la formation du sucre dans le foie. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, 44, 578-586.

Bloom, W. L., Lewis, G. T., Schumpert, M. Z. et Shen, T. M. (1950). Glycogen fractions of liver and muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 188, 631-636.

Bogdanis, G. C., Nevill, M. E., Boobis, L. H., Lakomy, H. K. et Nevill, A. M. (1995). Recovery of power output and muscle metabolites following 30s of maximal sprint cycling in man. *Journal of Physiology*, 482, 467-480.

Bogdanis, G. C., Nevill, M. E., Boobis, L. H. et Lakomy, H. K. (1996). Contribution of phosphocreatine and aerobic metabolism to energy supply during repeated sprint exercise. *Journal of Applied Physiology*, 80, 876-884.

Bogdanis, G. C., Nevill, M. E., Lakomy, H. K. et Boobis, L. H. (1998). Power output and muscle metabolism during and following recovery from 10 and 20s of maximal sprint exercise in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 163, 261-272.

Bonen, A., McDermott, J. C. et Hutber, C. A. (1989). Carbohydrate metabolism in skeletal muscle : an update of current concepts. *International Journal of Sports Medicine*, 10, 385-401.

Bonen, A., McDermott, J. C. et Tan, M. H. (1990). Glycogenesis and glyconeogenesis in skeletal muscle: effects of pH and hormones. *American Journal of Physiology*, 258, 693-700.

Boninsegna, A., D'Amelio, G., Calzavara, M. et Bertolini, M. (1990). Effect of swimming in thermal water on skeletal muscle, liver and heart glycogen. *Clinical Physiology and Biochemistry*, 8, 318-321.

Brojer, J., Staempli, H. R. et Graham, T. E. (2002a). Analysis of proglycogen and macroglycogen content in muscle biopsy specimens obtained from horses. *American Journal of Veterinary Research*, 63, 570-5.

Brojer, J., Jonasson, R., Schuback K. et Essen-Gustavsson, B. (2002b). Pro and macrogenolysis in skeletal muscle during maximal treadmill exercise. *Equine Veterinary Journal*, 34, 205-208.

Brojer, J., Staempli, H. R. et Graham, T. E. (2002c). Effect of extraction time and acid concentration on the separation of proglycogen and macroglycogen in horse muscle samples, *Canadian Journal of Veterinary Research*, 66, 201-206.

Bullivant, H. M., Geddes, R. et Willis, P. R. (1983). The fine structure of glycogen. *Biochemistry International*, 6, 497-506.

Butler, N. A., Lee, E.Y.C. et Whelan, W. J. (1977). A protein-bound glycogen component of rat liver. *Carbohydrate Research*, 55, 73-82.

Calder, P. C. (1991). Glycogen structure and biogenesis. *International Journal of Biochemistry*, 23, 1335-1352.

Calder, P. C. et Geddes, R. (1983). Ordered synthesis and degradation of liver glycogen involving 2-amino-2-deoxy-D-glucose. *Carbohydrates Research*, 118, 233-238.

Calder, P. C. et Geddes, R. (1985). Glycogen of high molecular weight from mammalian muscle. *Carbohydrates Research*, 135, 249-256.

Calder, P. C. et Geddes, R. (1989). Rat skeletal muscle lysosomes contain glycogen. *International Journal of Biochemistry*, 21, 561-567.

Calder, P. C. et Geddes, R. (1990a). Inhomogeneity of liver glycogen synthesis upon refeeding after starvation. *Biochemical Society Transactions*, 18, 976-977.

Calder, P. C. et Geddes, R. (1990b). Inhomogeneity of skeletal muscle glycogen synthesis upon refeeding following starvation. *Biochemical Society Transactions*, 18, 974-5.

Calder, P. C. et Geddes, R. (1992). Heterogeneity of glycogen synthesis upon refeeding following starvation. *International Journal of Biochemistry*, 24, 71-77.

Calder, P. C., Geddes, R. et Leecht, H. (1986). The heterogeneity of the protein content of liver and muscle glycogen. *Glycoconjugate Journal*, 3, 331-338.

Canadian council on animal care. Guide to care and use of experimental animals. (1993) . Ottawa, Canada : Canadian council on Animal care.

- Cardell, R. R., Micheals, J. E., Hung, J. T. et Cardell, E. L. (1985). SERGE, the subcellular site of initial hepatic glycogen deposition in the rat: a radioautographic and cytochemical study. *Journal of Cell Biology*, 101, 201-206.
- Cartee, G. D. et Farrar, R. P. (1988). Exercise training induces glycogen sparing during exercise by old rats. *Journal of Applied Physiology*, 64, 259-265.
- Chee, N. P. et Geddes, R. (1977). The structure of liver glycogen. *FEBS Letters*, 73, 164-166.
- Chee, N. P., Geddes, R. et Wills, P. R. (1983). Metabolic heterogeneity in rabbit brain glycogen. *Biochimica and Biophysica Acta*, 756, 9-12.
- Ching, R., Geddes, R. et Sally, A. S. (1985). Compartmentation of glycogen metabolism in the liver. *Carbohydrates Research*, 139, 285-291.
- Clark, J. H. et Conlee, R. K. (1979). Muscle and liver glycogen content : diurnal variation and endurance. *Journal of Applied Physiology*, 47, 425-428.
- Cohn, C. et Joseph, D. (1971). Feeding habits and daily rhythms in tissue glycogens in the rat. *Proceeding of the Society for Experimental Biology*, 137, 1303-1306.
- Comazzi, A. M., Nielsen, N. P., Morselli, R. et Dioguardi, N. Study of the motivation for balneo-therapy. Considerations of the needs of thermal baths users. *Minerva Medica*, 79, 399-405.
- Conlee, R. K., Rennie, M. J. et Winder, W. W. (1976). Skeletal muscle glycogen content : diurnal variation and effects of fasting. *American Journal of Physiology*, 231, 614-618.
- Cordier, D. et Dessaux, G. (1952). Variations of the level of the different forms of cardiac glycogen under the influence of anoxia of long duration. *The Journal of Physiology*, 44, 703-707.
- Derave, W., Gao, S. et Richter E. A. (2000). Pro and macrogenolysis in contracting rat skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 169, 291-296.
- Devos, P. et Hers, H. G. (1980). Random, presumably hydrolytic, and lysosomal glycogenolysis in the livers of rats treated with phlorizin and of newborn rats. *The Biochemical Journal*, 192, 141-163.

- Dohm, G. L., Tapscott, E. B., Barakat, H. A. et Kasperek, G. J. (1983). Influence of fasting on glycogen depletion in rats during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 55, 830-833.
- Drochmans, P. (1962). Morphologie du glycogène. Étude au microscope électronique de colorations négatives du glycogène particulaire. *Journal of Ultrastructural Research*, 6, 141-163.
- Drouin, R., Beaulieu, V., Robert, G., Milot, M., Massicotte, D., Péronnet, F. et Lavoie, C. (2004). Changes in liver glycogen subfractions and structure following endurance training in healthy and diabetic animals. Manuscrit soumis pour publication.
- Ecran, N., Gannon, M. C. et Nuttal, F. Q. (1994). Incorporation of glycogenin into a hepatic proteoglycogen after oral glucose administration. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 22328-22333.
- Ehrlich, P. (1883). Ueber das vorkommen von glycogen im diabetischen und im normalen organismus, *Ztschr. Fur Klinische Medizine*, 6, 33-46.
- Friden, J., Seger, J. et Ekblom, B. (1985). Implementation of periodic acid-thiosemicarbazide-silver proteinate staining for ultrastructural assessment of muscle glycogen utilization during exercise. *Cell and Tissue Research*, 242, 229-32.
- Friden, J., Seger, J. et Ekblom, B. (1989). Topographical localization of muscle glycogen : An ultrahistochemical study in the human vastus lateralis. *Acta Physiologica Scandinavica*, 135, 381-391.
- Fuller, R. et Diller, E. R. (1970). Diurnal variation in liver glycogen and plasma free fatty acids in rats fed ad libitum or single daily meal. *Metabolism*, 226-229.
- Gaitanos, G. C., Williams, C., Boobis, L. H. et Brooks, S. (1993). Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. *Journal of Applied Physiology*, 75, 712-719.
- Gannon, M. C. et Nuttall, F. Q. (1996). Glycogen in liver : Characteristics and biosynthesis. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 8, 163-194.
- Gao, K., Cardell, E. L., Morris, L. E., Griffin, B. F. et Cardell, R. R. (1995). Hepatic subcellular compartmentation of cytoplasmic phosphoenolpyruvate carboxykinase determined by immunogold electron microscopy. *JMSA ISSN*, 1, 151-161.

Gasa, R., Jensen, P. B., Berman, H. K., Brady, M. J., DePaoli-Roach, A. A. et Newgard, C. B. (2000). Distinctive regulatory and metabolic properties of glycogen-targeting subunits of protein phosphatase-1 (PTG, GL, GM/RGI) expressed in hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 26696-403.

Gaspar, Z. N. (1957). Investigation of the physiologically different glycogen fractions in newborn rabbits. *Experimentia*, 13, 113-114.

Geddes, R. (1971). Studies on native glycogen. 2. Observations on metabolic inhomogeneity. *International Journal of Biochemistry*, 2, 657-660.

Geddes, R. (1986). Glycogen : a metabolic viewpoint. *Bioscience Reports*, 6, 415-428.

Geddes, R. et Chow, J. C. (1994). Differing patterns of carbohydrate metabolism in liver and muscle. *Carbohydrates Research*, 256, 139-147.

Geddes, R., Harvey, J. D. et Wills, P. R. (1977). The molecular size and shape of liver glycogen. *The Biochemical Journal*, 163, 201-209.

Geddes, R., Otter, D. E., Scott, G. K. et Taylor, J. A. (1983). Disturbance of lysosomal glycogen metabolism by liposomal anti-alpha-glucosidase and some anti-inflammatory drugs. *The Biochemical Journal*, 212, 99-103.

Geddes, R. et Rapson, K. B. (1973). Post-mortem degradation of glycogen. *FEBS Letters*, 31, 324-326.

Geddes, R. et Stratton, G. C. (1977a). Molecular and metabolic heterogeneity of liver glycogen. *Carbohydrates Research*, 57, 291-299.

Geddes, R. et Stratton, G. C. (1977b). The influence of lysosomes on glycogen metabolism. *The Biochemical Journal*, 163, 193-200.

Geddes, R. et Taylor, J. A. (1985a). Lysosomal glycogen storage induced by Acrabose, a 1,4-alpha-glucosidase inhibitor. *Biochemical Journal*, 228, 319-324.

Geddes, R. et Taylor, J. A. (1985b). Factors affecting the metabolic control of cytosolic and lysosomal glycogen levels in the liver. *Bioscience Reports*, 5, 315-320.

Giaccari, A. et Rosseti, L. (1992). Predominant role of gluconeogenesis in the hepatic glycogen repletion of diabetic rats. *Journal of Clinical Investigation*, 89, 36-45.

- Giaccari, A., Morviducci, L., Zorretta, D. et al. (1995). In-vivo effects of glycosamine on insulin secretion and insulin sensitivity in the rat. Possible relevance to the maladaptive responses to chronic hyperglycaemia. *Diabetologia*, 38, 518-524.
- Giaccari, A., Morviducci, L., Pastore, L., Zorretta, D., Sbraccia, P., Maroccia, E., Buongiorno, A. et Tambrano, G. (1998). Relative contribution of glycogeneolysis and gluconeogenesis to hepatic glucose production in control and diabetic rats. A re-examination in the presence of euglycaemia. *Diabetologia*, 41, 307-314.
- Goforth, H. W., Arnall, D. A., Bennett, B. L. et Law, P. G. (1997). Persistence of supercompensated muscle glycogen in trained subjects after carbohydrate loading. *Journal of Applied Physiology*, 82, 342-347.
- Goldsmith, E., Sprang, S. et Fletterick, J. R. (1982). Structure of maltoheptaose by difference Fourier methods and a model for glycogen. *Journal of Molecular Biology*, 156, 411-427.
- Goldstein, M. A., Murphy, D. L., Van Winkle, W. B. et Entman, M. L. (1985). Cytochemical studies of a glycogen-sarcoplasmic reticulum complex. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 6, 177-187.
- Graham, T. E., Adamo, K. B., Shearer, J., Marchand, I. et Saltin, B. (2001). Pro- and macro-glycogenolysis: relationship with exercise intensity and duration. *Journal of Applied Physiology*, 90, 873-879.
- Gunderson, H., Wehmeyer, N., Burnett, D., Nauman, J., Hartzell, C. et Savage, S. (1996). Exercise and exhaustion effects on glycogen synthesis pathways. *Journal of Applied Physiology*, 81, 2020-2026.
- Gunja-Smith, Z., Marshall, J. J. et Smith, E. E. (1971). Enzymatic determination of the unit chain length of glycogen and related polysaccharides. *FEBS Letters*, 13, 309-311.
- Hansen B. F., Derave, W., Jensen, P et Eichter, E. A. (2000). No limiting role for glycogenin in determining maximal attainable glycogen levels in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 278, 398-404.
- Hansen, B. F., Jensen, P. et Barbetti, F. (1998). Glycogen storage in L6 cells is increased by overexpression of glycogenin. *Diabetologia*, 41, A201 (Résumé).
- Harvey, J. D., Geddes, R. et Wills, P. R. (1979). Conformational studies of BSA using laser light scattering. *Biopolymers*, 18, 2249-2260.

- Hesketh, J. E. et Pryme, I. F. (1991). Interaction between mRNA, ribosomes and cytoskeleton. Review article. *The Biochemical Journal*, 277, 1-10.
- Holness, M. J., Schuster-Bruce, M. J. L. et Sugden, M. C. (1988). Skeletal muscle glycogen synthesis during the starved-to-fed transition in the rat. *The Biochemical Journal*, 254, 855-859.
- Huang, M., Lee, C., Lin, R. et Chen, R. (1997). The exchange between proglycogen and macroglycogen and the metabolic role of the protein rich glycogen in rat skeletal muscle. *Journal of Clinical Investigation*, 99, 501-505.
- Hubbard, M. J. et Cohen, P. (1993). On target with a new mechanism for the regulation of protein phosphorylation. *Trends in Biochemical Sciences*, 18, 172-7.
- Hultman, E. et Nilsson, L. H. (1971). Liver glycogen in men. Effects of different diets and muscular exercise. In : Muscle metabolism during exercise, édité par Pernow, B et Saltin, B. New York : Plenum, 143-151.
- Jansson, E. (1981). Acid soluble and insoluble glycogen in human skeletal muscle. *Acta physiologica Scandinavica*, 113, 337-340.
- Kennedy, L. D., Kirkman, B. R., Lomako, J., Rodriguez, I. R. et Whelan, W. J. (1985). The biogenesis of rabbit muscle glycogen. In Berman, M. C., Gevers, W. et Opie, L.H, membranes and muscles (pp. 65-84). Oxford ICSU.
- Kits Van Heijningen, A. J. M. et Kemp. A. (1955). Free and fixed glycogen in rat muscle. *The Biochemical Journal*, 59, 487-491.
- Kramer, K., Dijkstra, H. et Bast, A. (1993). Control of physical exercise of rats in a swimming basin. *Physiological Behaviour*, 53, 271-276.
- Kruszynska, Y. T., Ciaraldi, T. P. et Henry, R. R. (2001). Regulation of glucose metabolism in skeletal muscle. In : Handbook of Physiology : A critical, comprehensive presentation of physiological knowledge and concepts (section 7 : the endocrine system), édité par Jefferson et al., 579-607.
- Lazarow, A. (1942). Particulate glycogen. A submicroscopic component of the guinea pig liver cell; its significance in glycogen storage and the regulation of blood sugar. *Anatomical Record*, 84, 31-50.
- Leander, P., Mansson, S. et Pettersson, G. (2000). Glycogen content in rat liver. *Acta Radiologica*, 41, 92-96.

- Leloir, L. F. et Goldemberg, S. H. (1960). Synthesis of glycogen from uridine diphosphate glucose in liver. *Journal of Biological Chemistry*, 235, 919-923.
- Lomako, J., Lomako, W. M. et Whelan, W. J. (1991). Proglycogen : a low-molecular-weight form of muscle glycogen. *FEBS Letters*, 279, 223-228.
- Lomako, J., Lomako, W. M. et Whelan, W. J. (1995). Glycogen metabolism in quail embryo muscle. The role of the glycogenin primer and the intermediate proglycogen. *European Journal of Biochemistry*, 234, 343-349.
- Lomako, J., Lomako, W. M., Whelan, W. J., Dombro, R. S., Neary, J. T. et Norenberg, M. D. (1993). Glycogen synthesis in the astrocyte : from glycogenin to proglycogen to glycogen. *FASEB Journal*, 7, 1386-1393.
- Lomako, J., Mazuruk, K., Lomako, W. Malonzo, M. D., Whelan, W. J. et Rodriguez, I. R. (1996). The human intron-containing gene for glycogenin maps to chromosome 3, band q24. *Genomics*, 33, 519-522.
- Lomako, J., Lomako, W. M. et Whelan, W. J. (1989). A self-glycosylating protein is the primer for rabbit muscle glycogen biosynthesis. *FASEB Journal*, 2, 3097-3103.
- Lomako, J., Lomako, W. M. et Whelan, W. J. (2004). Glycogenin: the primer for mammalian and yeast glycogen synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1673, 45-55.
- Marchand, I., Chorneyko, K., Tarnopolsky, M., Hamilton, S., Shearer, J., Potvin, J. et Graham, T. E. (2002). Quantification of subcellular glycogen in resting human muscle: granule size, number and location. *Journal of Applied physiology*, 93, 1598-607.
- Manzella, S. M., Roden, L. et Meezan, E. (1994). A biophasic radiometric assay of glycogenin using the hydrophobic acceptor N-dodecyl-beta-D-maltoside. *Analytical Biochemistry*, 216, 383-391.
- McGilvery, R. (1979). *Biochemistry a functional approach*, ch. 27, 2ème édition. Holt-Sunders international editions, W.B. Saunders, Philadelphia.
- Melançon, A., Milot, M., Massicotte, D., Péronnet, F. et Lavoie, C. (2004). Increased density of glucagon receptors in liver from fasted and exercise rats. (manuscrit en préparation).
- Meléndez, R. E., Meléndez-Hévia, F. et Cascante, M. (1997). How did glycogen structure evolve to satisfy the requirement for rapid mobilization of glucose? A

problem of physical constraints in structure building. *Journal of Molecular Evolution*, 45, 446-455.

Meléndez, R., E. Meléndez-Hévia, F., Mas, F., Mach, J. et Cascante, M. (1998). Physical constraints in the synthesis of glycogen that influence its structural homogeneity: a two-dimensional approach. *Biophysical Journal*, 75, 106-114.

Meléndez, R., E. Meléndez-Hévia, F. et Canela, E. I. (1999). The fractal structure of glycogen: A clever solution to optimize cell metabolism. *Biophysical Journal*, 77, 1327-1332.

Meléndez-Hévia, E., Wandell, T. G. et Shelton, D. E. (1993). Optimization of molecular design in the evolution of metabolism: the glycogen molecule. *The Biochemical Journal*, 295, 477-483.

Meléndez-Hévia, E., Wandell, T. G., Rapozo, R. R. et Lupianez, J. A. (1995). Evolution of metabolism: optimization of glycogen structure. *Journal of Biological Systems*, 3, 177-186.

Meyer, F. et Lourau, M. (1956). Preparation and purification of lyo- and desmoglycogen from the rat liver. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de L'Académie des Sciences*, 242, 1367-9.

Meyer, F., Heilmeyer, L. M. G. J., Haschke, R. H. et Fischer, E. H. (1970). Control of phosphorylase activity in muscle glycogen particle I. Isolation and characterization of the protein-glycogen complex. *Journal of Biological Chemistry*, 245, 6642-6648.

Michal, G. (1985). Carbohydrates. In : Bergmeyer NU (éd). *Methods of enzymatic analysis*. Vol. VI, VCH Publishers, Weinheim, pp. 191-198.

Miller, T. B. (1978). Effects of diabetes on glucose regulation of enzymes involved in hepatic glycogen metabolism. *American Journal of Physiology*, 234, 13-19.

Mu, J., Skurat, A. V. Et Roach, P. J. (1997). Glycogenine-2, a novel self-glycosylating protein involved in liver glycogen biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 27589-27597.

Nevill, M. E., Boobis, L. H. et Williams, C. (1989). Effect of training on muscle metabolism during treadmill sprinting. *Journal of Applied Physiology*, 67, 2376-82.

Newgard, C. B., Brady, M. J., O'Doherty, R. M. et Saltiel, A. R. (2000). Organizing glucose disposal. Emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1. *Diabetes*, 49, 1967-1977.

O'Doherty, R. M., Anderson, P. R., Zhao, A. Z., Bornfeldt, K. E et Newgard, C. B. (1999). Sparing effect of leptin on liver glycogen stores in rats during the fed-to-fasted rats. *American Journal of Physiology and Endocrinological Metabolism*, 277, 544-550.

Passoneau, J. V. et Lauderdale, V. R. (1974). A comparison of three methods of glycogen measurements in tissues. *Analytical Biochemistry*, 60, 405-412.

Polishchuk, S. V., Brandt, N. R., Meyer, H. E., Varsanyi, M. et Heilmeyer, L. M. G, Jr. (1995). Does phosphorylase kinase control glycogen biosynthesis in skeletal muscle. *FEBS Letters*, 362, 271-275.

Prats, C., Bernal, C., Cadefau, J. A., Frias, M., Tibolla. et Cusso, R. (2002). Glycogen depletion and resynthesis during 14 days of chronic low-frequency stimulation of rabbit muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1573, 68-74.

Preiss, J. et Romeo, T. (1981). The comparative biochemistry of glycogen and starch. In : Ginsburg, V. et Robbins. *Biology of Carbohydrates* (pp. 199-314).

Printen, J. A., Brady, M. J. et Saltiel, A. R. (1997). PTG, a protein phosphatase 1-binding protein with a role in glycogen metabolism. *Science*, 275, 1475-1478.

Reikeras, O., Nordstrand, K. et Henden, T. (1988). Effects of fasting and glucose-insulin-potassium on glycogen contents in heart, skeletal muscle and liver. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 48, 285-288.

Richter, E. A., Hansen, S. A. et Hansen, B. F. (1988). Mechanisms limiting glycogen storage in muscle during prolonged insulin stimulation. *American Journal of Physiological and Endocrinological Metabolism*, 255, 621-628.

Roach, P. J. (2000). Biosynthesis of glycogen. In : Oligosaccharides. In : Chemistry and Biology-A comprehensive Handbook. Édité par Ernst, B et al., 349-361.

Roach, P. J., Cheng, C., Huang, D., Lin, A., Mu, J., Skurat, A. V., Wilson, W. et Zahi, L. (1998). Novel aspects of the regulation of glycogen storage. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 9, 139-151.

Roach, P. J. et Skurat, A. V. (1997). Self-glucosylating initiator proteins and their role in glycogen biosynthesis. *Progress in Nucleic Research and Molecular Biology*, 57, 289-317.

Roach, P. J., Skurat, A. V. et Harris, R. A. (2001). Regulation of glycogen metabolism. In *Handbook of Physiology : A critical, comprehensive presentation of physiological knowledge and concepts*. Section 7, volume II. The endocrine pancreas and regulation of metabolism, Edité par Jefferson et al., p.609-647.

Roach, P. J. (2002). Glycogen and its metabolism. *Current Molecular Medicine*, 2, 101-120.

Roe, J. H., Bailey, J. M., Gray, R. R. et Robinson, J. N. (1961). Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid solution. *Journal of Biological Chemistry*, 236, 1244-1246.

Rosenvold, K., Essen-Gustavsson, M. et Andersen, H. J. (2003). Dietary manipulation of pro- and macroglycogen in porcine skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 81, 130-134.

Rossetti, L., Giaccari, A., Klein-Robbenhar, E. et Vogel, L. R. (1990a). Insulinomimetic properties of trace elements and characterization of their in vivo mode of action. *Diabetes*, 39, 1243-1250.

Rossetti, L., Frontoni, S., Dimarchi, R., DeFronzo, R. A. et Giaccari, A. (1990b). Metabolic effects of insulin-like growth factor-I in diabetic rats. *Diabetes*, 40, 444-448.

Russell, J. A. et Bloom, W. L. (1955). Extractable and residual glycogen in tissues of the rat. *American Journal of Physiology*, 183, 345-355.

Russell, J. A. et Bloom, W. A. (1956). Hormonal control of glycogen in the heart and other tissues in rats. *Endocrinology*, 58, 83-94.

Rybicka, K. (1977). Morphology, histochemistry, and staining of glycogen in the heart. *Proceeding of the 35th Annual EMSA Meeting*, 448-449.

Rybicka, K. (1979a). Glycosomes (protein- glycogen complex) in the canine heart. *Virchows Arch B Cell Path*, 30, 335-347.

Rybicka, K. (1981a). Simultaneous demonstration of glycogen and protein in glycosomes of cardiac tissue. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 29, 4-8.

Rybicka, K. (1981b). Binding of glycosomes to endoplasmic reticulum and to intermediate filaments in cardiac conduction fibers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 29, 553-560.

Rybicka, K. (1979b). Morphologic recognition of "desmoglycogen" in cardiac tissue. Proceeding of 37th Annual EMSA Meeting, 312-313.

Rybicka, K. (1996). Glycosomes- the organelles of glycogen metabolism. *Tissues & Cell*, 28, 253-263.

Scheurink, A. J., Steffens, A. B., Dreteler, G. H., Benthem, L. et Bruntink, R. (1989). Experience affects exercise-induced changes in catecholamines, glucose, and FFA. *American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 256, R169-R173.

Scott, R. B. et Still, W. J. S. (1968). Glycogen in human peripheral blood leucocytes. II. The macromolecular state of leucocyte glycogen. *Journal of Clinical Investigation*, 47, 353-359.

Singh, D. et Avery, D. D. (1975). Physiological Techniques in Behavioral Research. Édité par Brooks / Cole Publishing Compagny.

Shearer, J. et Graham, T. E. (2002). New perspectives on the storage and organisation of muscle glycogen. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 27, 179-203.

Shearer, J. et Graham, T. E. (2004). Novel aspects of skeletal muscle glycogen and its regulation during rest and exercise. *Exercise and Sciences Reviews*, 32, 120-126.

Shearer, J., Marchand, I., Dyck, D., Tarnopolsky, M. et Graham, T. (2001). Pro- and macroglycogenolysis during intense exercise : roles of glycogen content and phosphorylase activation. *Journal of Applied Physiology*, 90, 880-889.

Shearer, J., Marchand, I., Sathasivam, P., Tarnopolsqy, M. A. et Graham, T. E. (2000). Glycogen activity in human skeletal muscle is proportional to muscle glycogen concentration. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 278, 177-180.

Skurat, A. V., Lim, S. S. et Roach, P. J. (1997). Glycogen biogenesis in rat1fibroblasts expressing rabbit muscle glycogenin. *European journal of Biochemistry*, 245, 147-55.

Skurat, A. V. et Roach, P. J. (2000). Regulation of glycogen synthesis. Dans *Diabetes Mellitus : A fundamental and clinical text*. Édité par LeRoith, D et al., pp251-264.

Smythe, C. et Cohen, P. (1991). The discovery of glycogenin and the priming mechanism of glycogen biogenesis. *European Journal of Biochemistry*, 189, 199-204.

Smythe, C., Villar-Palasi, C. et Cohen, P. (1989). Structural and functional studies on rabbit liver glycogenin. *European Journal of Biochemistry*, 183, 205-209.

Smythe, C., Watt, P. et Cohen, P. (1990). Further studies on the role of glycogenin in glycogen biosynthesis. *European Journal of Biochemistry*, 189, 199-204.

Stetten, M. R. et Stetten, D. (1951). Metabolism of sorbitol and glucose compared in normal and alloxan-diabetic rats. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 157-65.

Stetten, M. R. et Stetten, D. (1954). A study of the nature of glycogen regeneration in the intact animal. *Journal of Biological Chemistry*, 207, 331-40.

Stetten, M. R. et Stetten, D. (1955). Glycogen regeneration *in vivo*. *Journal of Biological Chemistry*, 213, 723-32.

Stetten, D. J. R. et Stetten, M. R. (1960). Glycogen metabolism. *Physiological Review*, 40, 505-537.

Szugula, Z. (1990). Erythrocytic system under the influence of physical exercise and training. *Sports Medicine*, 10, 181-197.

Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T. et Ohsumi, Y. (1992). Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *Journal of Cellular Biology*, 119, 301-311.

Tarentino, A. L. et Maley, F. (1976). Direct evidence that D-galactosamine incorporation into glycogen occurs via UDP-glucosamine. *FEBS Letters*, 71, 215-219.

Tata, J. R. (1964). Subcellular redistribution of liver α -glucan phosphorylase during alterations in glycogen contents. *The Biochemical Journal*, 90, 284-292.

Terzakis, J. A. (1968). Uranyl acetate, a stain and a fixative. *Journal of Ultrastructural Research*, 22, 168-184.

Thiéry, J. P. (1967). Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *Journal de microscopie*, 6, 987-1018.

Van Heijningen, A. J. M. et Kemp, A. (1955). Fixed and free glycogen. *The Biochemical Journal*, 40, 505-537.

Wanson, J. C. et Drochmans, P. (1968). Rabbit skeletal muscle glycogen : a morphological and biochemical study of glycogen β -particles isolated by the precipitation-centrifugation method. *The Journal of Cell Biology*, 38, 130-150.

Wanson, J. C. et Drochmans, P. (1972). Role of the sarcoplasmic reticulum in glycogen metabolism. Binding of phosphorylase, phosphorylase kinase, and primer complexes to the sarcovesicles of rabbit skeletal muscle. *The Journal of Cell Biology*, 54, 206-224.

Wilstatter, R. et Rohdewald, M. (1934). Protein binding of physiologically important substances. The condition of glycogen in liver, muscle, and leukocytes. *Zeitschrift für Physiologische Chemie*, 225, 103-124.

Yalcin, O., Bor-Kucukatay, M., Senturk, U. K. et Baskurt, O. K. (2000). The effects of swimming exercise on red blood cell rheology in trained and untrained rats. *Journal of Applied Physiology*, 88, 2074-2080.

Zhai, L., Mu, J., Zong, H., DePaoli-Roach, A. A. et Roach, P. (2000). Structure and chromosomal localization of the human glycogenin-2 gene GYG2. *Gene*, 242, 229-235.