



HAL
open science

**Effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé
métabolique de la descendance : composition corporelle,
fonction pancréatique et gestion des substrats
énergétiques**

Charline Quiclet

► **To cite this version:**

Charline Quiclet. Effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance : composition corporelle, fonction pancréatique et gestion des substrats énergétiques. Médecine humaine et pathologie. Université Grenoble Alpes, 2016. Français. NNT : 2016GREAS041 . tel-01692516

HAL Id: tel-01692516

<https://theses.hal.science/tel-01692516>

Submitted on 25 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Mouvement et Comportement pour la santé et
l'Autonomie**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Charline QUICLET

Thèse dirigée par **Christophe PISON** et
codirigée par **Karine COUTURIER**

préparée au sein du **Laboratoire de Bioénergétique
Fondamentale et Appliquée**
dans l'**École Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et
l'Environnement**

Effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance : composition corporelle, fonction pancréatique et gestion des substrats énergétiques.

Thèse soutenue publiquement le **24 Octobre 2016**,
devant le jury composé de :

M. Henri BENOIT

PU, Université Grenoble Alpes, Président

M. Dominique DARMAUN

PU-PH, Université de Nantes, Rapporteur

Mme Nathalie BOISSEAU

PU, Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand, Rapporteur

M. Rémy SLAMA

DR, Université Grenoble Alpes, Membre

Mme Karine COUTURIER

MCU, Université Grenoble Alpes, Membre



Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier les membres du jury pour l'intérêt qu'ils portent à ce travail et pour le temps consacré à son examen.

A Mme Nathalie Boisseau et M. Dominique Darmaun, qui me font l'honneur d'être rapporteurs de ce travail. Je suis consciente de l'implication que cela requiert et je vous remercie de consacrer du temps à examiner et juger mon travail, malgré vos emplois du temps chargés. J'espère sincèrement que vous le trouverez intéressant.

A M. Rémy Slama, et M Henri Benoit pour l'intérêt qu'ils portent à ces travaux et à cette thématique et pour avoir accepté de les examiner.

Je suis honorée de votre participation à l'examen de cette thèse et je vous en suis très reconnaissante.

Je souhaite remercier le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et la SFR-SEM qui m'ont accordé les financements me permettant de mener à bien ce projet.

J'exprime également mes remerciements aux Professeurs Uwe Schlattner et Eric Fontaine qui m'ont accueillie au sein du Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée et m'ont fourni les moyens de mener ce travail.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse, le Pr. Christophe Pison, pour sa confiance, son soutien et son enthousiasme pour ce projet.

Je voudrais remercier tout particulièrement ma co-directrice de thèse, Karine Couturier, pour son soutien depuis mon stage de Master 2, pour la confiance qu'elle a su m'accorder et pour tout ce qu'elle m'a apporté au cours de ces années. Cela a été un plaisir de travailler avec toi pendant ces 3 ans.

Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont participé à ce travail : Cécile Batandier et Guillaume Vial pour leur aide précieuse et leur implication

dans ce projet depuis le début ; Phanélie Berthon pour son enthousiasme et sa persévérance malgré les embûches ; Farida Siti pour sa gentillesse et son aide dans les premiers mois ; Hervé Sanchez pour ses conseils et son expérience ; les stagiaires de Master Emilie et Hanane ainsi que les "petits" stagiaires d'excellence. Merci à Cindy Tellier pour le soin à mes nombreux animaux et à Régis, le "MacGyver" du labo, qui trouve toujours une solution aux problèmes techniques. Un grand merci à Hervé Dubouchaud qui m'a vue "grandir" et qui est là depuis mes débuts (6 ans déjà !). Tu as joué un rôle très important dans cette thèse, merci d'avoir été présent quand j'en avais besoin.

Je remercie aussi tous les membres du laboratoire pour leur accueil chaleureux et les bons moments passés ensemble.

Un très grand merci à tous les thésards : Martin, mon voisin d'en face ; Clovis qui sait tout ; Adeline (bon courage avec les "bibis" !), Céline (ma voisine du mois d'août qui m'a supportée pour la fin) et Arthur (tu es agaçant parfois, mais c'est pour cela qu'on t'aime !) qui ont débuté "l'aventure thèse" en même temps que moi ; Camille et Morgane, les petites dernières ; et aux post-docs Fayçal, Florence et Charlotte.

Merci à mes copains d'entraînement qui ont su me changer les idées après les longues journées passées au labo et qui m'ont poussée, la "vieille", à me surpasser. Merci à tous mes amis, Muchette, Minou, Aude et tous les autres !

Je remercie également ma famille pour son soutien sans failles durant toutes ces années : mes grands-parents Michel, Dédette, Roland et Nizou, mes oncles, mes tantes et mes cousins/cousines, mais également mes frères Aurélien et Mathieu et surtout mes parents, Pierre et Isabelle, qui m'ont poussée à me surpasser et qui ont toujours été là, dans les bons moments comme dans les plus difficiles, merci pour votre amour.

Sommaire

INTRODUCTION	1
I. Le pancréas, l'insuline et l'homéostasie énergétique.....	4
1. Le pancréas	5
2. La production de l'insuline	6
2.1. La synthèse de l'insuline	7
2.2. La sécrétion de l'insuline (d'après (Magnan 2005))	7
3. Les tissus insulino-sensibles	9
3.1. Le muscle squelettique.....	9
3.2. Le muscle cardiaque.....	9
3.3. Le tissu adipeux	10
3.4. Le foie	10
4. La signalisation de l'insuline	10
4.1. Le récepteur à l'insuline	10
4.2. La signalisation intracellulaire	11
5. Actions de l'insuline sur le métabolisme.....	12
5.1. Action sur le métabolisme du glucose	12
5.2. Action sur le métabolisme des lipides.....	14
5.3. Action sur le métabolisme des acides aminés	15
6. Modulation de la voie de signalisation de l'insuline par l'environnement.....	15
6.1. Profil en acides gras alimentaires et insulino-résistance.....	15
6.2. Exercice physique et insulino-résistance	16
6.3. Age, sexe et insulino-résistance	17
II. Les origines développementales de la santé (DOHaD), l'environnement maternel et la programmation fœtale.....	19
1. Les DOHaD.....	19
1.1. Définition et concept.....	19
1.2. L'épigénétique.....	22
1.2.1. L'organisation du matériel génétique.....	23
1.2.2. Les marques épigénétiques.....	23
1.2.2.1. La méthylation de l'ADN	24
1.2.2.2. Les modifications des histones.....	24
1.2.2.3. ARN non codants	25
2. Environnement gestationnel et programmation fœtale	26
2.1. La nutrition maternelle.....	26
2.1.1. Les études épidémiologiques.....	26
2.1.2. Les études animales	31

2.2. L'obésité maternelle	33
2.3. Le diabète gestationnel.....	33
2.4. Le stress maternel.....	35
2.5. La chaleur.....	36
2.6. L'hypoxie.....	37
2.7. L'âge de la mère	37
2.8. L'activité physique de la mère.....	38
2.8.1. Les différentes modalités d'exercice	38
2.8.2. Les conséquences pour la mère	40
2.8.2.1. La grossesse normale.....	40
2.8.2.2. La grossesse pathologique.....	43
2.8.3. Les conséquences de l'exercice maternel sur la descendance.....	45
2.8.3.1. Sur le poids corporel.....	45
2.8.3.2. Sur le métabolisme	48
2.8.3.3. Sur la fonction cardio-vasculaire.....	50
2.8.3.4. Sur la fonction cognitive	52
3. Environnement de la mère et qualité du lait maternel.....	53
3.1. Chez l'humain.....	53
3.2. Chez l'animal.....	55
OBJECTIFS SCIENTIFIQUES	58
MATERIELS ET METHODES.....	64
1. Animaux.....	65
2. Conditionnement.....	65
2.1. Protocole d'entraînement dans les études 1 et 2	65
2.2. Protocole d'entraînement dans l'étude 3	66
2.3. Alimentation.....	67
3. Reproduction et détermination de la gestation (Etudes 1 et 2).....	68
4. Traite (Etude 3)	69
5. Test de tolérance au glucose (Etudes 1, 2 et 3)	70
6. Test de tolérance à l'insuline (Etudes 1, 2 et 3)	70
7. Composition corporelle et prélèvement d'organes (Etudes 1, 2 et 3)	71
8. Test de charge en insuline (Etudes 1, 2 et 3).....	71
9. Isolement d'ilots pancréatiques et sécrétion d'insuline (Etudes 1, 2 et 3).....	72
10. Contenu en insuline dans le pancréas (Etudes 1, 2 et 3)	73
11. Histologie du pancréas (Etude 1)	74
12. Oxygraphie (Etude 2).....	74
12.2. Détermination de la respiration basale (V ₀)	75
12.3. Mesure de la respiration maximale (V _{max}) et de l'affinité pour les substrats (K _m) ..	77

13. Western Blots (Etudes 1, 2 et 3).....	78
13.1. Préparation des échantillons.....	79
13.2. Electrophorèse.....	79
13.3. Transfert sur membrane PVDF	79
13.4. Saturation et révélation	80
14. Dosages enzymatiques (Etudes 1 et 2).....	81
14.1. La citrate synthase.....	82
14.2. La 3-hydroxyacyl-Coenzyme A déshydrogénase	83
14.3 L'énolase	84
15. Dosage du glycogène dans le foie (Etudes 1 et 2).....	84
16. Analyse du lait maternel (Etude 3).....	85
16.1. Dosage des protéines du lait.....	85
16.2. Dosage des lipides du lait.....	85
17. Dosage de l'insuline (Etudes 1, 2 et 3)	86
18. Dosage des protéines (Etudes 1, 2 et 3)	86
19. Analyses statistiques	87
RESULTATS - DISCUSSION	88
I. Etude 1 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la gestation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance.....	89
I.1. Résultats ETUDE 1 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la gestation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance	90
I.1.1 Caractéristiques des mères.....	90
I.1.2. Caractéristiques des portées.....	91
I.1.3. Caractéristiques de la descendance.....	92
I.1.3.1 Poids corporel et des organes, aire des ilots pancréatiques au sevrage	92
I.1.3.2. Paramètres sanguins	93
I.1.3.2.1. Glycémie	93
I.1.3.2.2. Insulinémie.....	94
I.1.3.3. Tolérance au glucose	95
I.1.3.4. Sensibilité à l'insuline.....	97
I.1.3.5. Signalisation de l'insuline hépatique et musculaire	99
I.1.3.6. Contenu en insuline du pancréas et sécrétion d'insuline par les ilots	102
I.1.3.7. Expression des protéines et activité des enzymes des métabolismes glucidique et lipidique	105
I.1.3.7.1. La citrate synthase (CS) dans le foie et dans le muscle	105
I.1.3.7.2. La PhosphoEnolPyruvateCarboxyKinase (PEPCK) dans le foie.....	106
I.1.3.7.3. L'Acétyl-Co-enzyme A Carboxylase (ACC) dans le foie	106
I.1.3.7.4. La Fatty Acid Synthase (FAS) dans le foie.....	107

I.1.3.7.5. La 3-hydroxyacyl-Coenzyme A déshydrogénase (HAD) dans le foie et dans le muscle	108
I.1.3.7.6. L'énolase dans le foie et dans le muscle.....	109
I.1.3.7.7. La Glycogène Synthase Kinase 3 (GSK3) dans le foie et dans le muscle	110
I.1.3.8. Concentration en glycogène hépatique.....	112
I.2. Discussion ETUDE 1 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la gestation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance	113
II. Etude 2 : Effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et la gestion des substrats énergétiques de la descendance soumise à un régime gras et sucré.....	121
II.1. Résultats ETUDE 2 : Effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et la gestion des substrats énergétiques de la descendance soumise à un régime gras et sucré.....	122
II.1.1. Caractéristiques des mères	122
II.1.2. Caractéristiques des portées	123
II.1.3. Caractéristiques de la descendance	124
II.1.3.1. Prise alimentaire.....	124
II.1.3.2. Poids corporel et poids des organes	124
II.1.3.3. Paramètres sanguins.....	126
II.1.3.3.1. Glycémie.....	126
II.1.3.3.2. Insulinémie	127
II.1.3.4. Tolérance au glucose.....	128
II.1.3.5. Sensibilité à l'insuline.....	129
II.1.3.6. Signalisation de l'insuline hépatique et musculaire.....	130
II.1.3.7. Métabolisme mitochondrial musculaire en présence de substrats lipidiques et glucidiques.....	133
II.1.3.8. Contenu en insuline du pancréas et sécrétion d'insuline par les ilots.....	135
II.1.3.9. Expression des protéines et activité des enzymes des métabolismes glucidique et lipidique	136
II.1.3.9.1. La PEPCK, la CS, la HAD et l'énolase dans le foie et le muscle	136
II.1.3.9.2. La FAS dans le foie	138
II.1.3.9.3. La GSK3 dans le foie et dans le muscle	138
II.1.3.10. Concentration en glycogène hépatique	140
II.2. Discussion ETUDE 2 : Effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et la gestion des substrats énergétiques de la descendance soumise à un régime gras et sucré.....	142
III. Etude 3 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance	149

III.1. Résultats ETUDE 3 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance	150
III.1.1 Caractéristiques des mères	150
III.1.2. Caractéristiques des portées	151
III.1.2.1. Taille des portées et poids des ratons.....	151
III.1.2.2. Composition du lait maternel.....	152
III.1.3. Caractéristiques de la descendance	153
III.1.3.1 Poids corporel et des organes.....	153
III.1.3.2. Paramètres sanguins.....	155
III.1.3.2.1. Glycémie	155
III.1.3.2.2. Insulinémie	156
III.1.3.3. Tolérance au glucose	157
III.1.3.4. Sensibilité à l'insuline	159
III.1.3.5. Signalisation de l'insuline hépatique et musculaire	161
III.1.3.6. Contenu en insuline du pancréas et sécrétion d'insuline par les ilots	163
III.2. Discussion ETUDE 3 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance	166
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	172
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	177
ANNEXES	198

Liste des abréviations

2-PGA : 2-Phospho-Glycérate	DTT : Dithiothreitol
ACC : Acétyl CoA carboxylase	EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid
ACS : Acyl-CoASynthase	ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ADN : acide désoxyribonucléique	EPA : acide eicosapentaénoïque
ADP : adénosine diphosphate	Erk : Extracellular signal-regulated kinase
AG : acide gras	ETA : acide eicosatétraénoïque
Akt : Protein Kinase B	FAS : Fatty Acid Synthase
AMP : adénosine monophosphate	FC : Fréquence Cardiaque
AMPc : adénosine monophosphate cyclique	FCmax : Fréquence Cardiaque maximale
ARA : acide arachidonique	FCR : Fréquence Cardiaque de Réserve
ARNm : acide ribonucléique messenger	FOXO1 : Forkhead box O1
ARNnc : acide ribonucléique non codant	G : Gauge
AS160 : Akt substrate of 160 kDa	G6 Pase : Glucose-6-phosphatase
ATP : adénosine triphosphate	GDP : guanosine diphosphate
BCA : BicinChonic Acid	GH : Growth Hormone
BDNF : Brain-Derived Neutrophic Factor	GLUT1 : transporteur du glucose 1
BSA : Bovine Serum Albumin	GLUT2 : transporteur du glucose 2
CoA-SH : Co-enzyme A	GLUT4 : transporteur du glucose 4
CoA-TNB	Grb2 : Growth factor receptor bound protein 2
CoA-TNB : adduct Co-enzyme A-thio-bis-2-nitrobenzoate	GS : glycogène synthase
CPI-17 : C-kinase-activated protein phosphatase-1 inhibitor	GSK3 : Glycogène Synthase Kinase 3
CPT1 : Carnitine palmitoyltransferase 1	GTP : guanosine triphosphate
CPT2 : Carnitine palmitoyltransferase 2	H1 : histone H1
CS : Citrate Synthase	H2A : histone H2A
DHA : acide docosahexaénoïque	H2B : histone H2B
DNMTs : ADN méthyl-transférases	H3 : histone H3
DOHaD : Developmental Origins of Health and Diseases	H4 : histone H4
DTNB : 5-5'-DiThiobis(2-acide NitroBenzoïque)	HAD : 3-Hydroxy-AcylCoA-Deshydrogénase

HATs : Histones Acétyl Transférases	MYPT1 : myosin phosphatase target subunit 1
HBSS : Hanks' Balanced Salt Solution	NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide-Phosphate réduit
HDACs : Histones Désacétylases	NFkB : Nuclear Factor kappa B
HDL : high density lipoprotein	NSF : <i>N</i> -ethylmaleimide-sensitive factor
HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique	OGTT : Oral Glucose Tolerance Test
HMT : Histones MéthylTransférases	PA : Prise Alimentaire
HOMA : HOMEostasis Model Accessment of insulin resistance	pACC : Acétyl CoA carboxylase phosphorylée
HRP : Horseradish Peroxidase	PBS : Phosphate Buffered Saline
IGF : Insulin-like Growth Factor	PC : palmitoyl DL carnitine
IGF-1 : Insulin-like growth factor-1	PCoA : palmitoyl CoA
IGF-2 : Insulin-like growth factor-2	PDE3B : phosphodiesterase 3B
IL6 : Interleukine 6	PDK1 : phosphoinositide dependant kinase
IMC : Indice de Masse Corporelle	PEP : Phospho-EnolPyruvate
ipGTT : iptraperitoneal Glucose Tolerance Test	PEPCK : phosphoénolpyruvate carboxikinase
ipITT : intraperitoneal Insulin Tolerance Test	PGC1- α : Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1alpha
IRS : Insulin Receptor Substrate	pGSK3 : Glycogène Synthase Kinase 3 phosphorylée
Kcal : kilocalories	PI3K : phosphatidyl inositol 3 kinase
Km : Constante d'affinité	PIP2 : phosphatidyl 4,5 phosphate
KRBH : Krebs-Ringer bicarbonate HEPES buffer	PIP3 : phosphatidyl 3 4,5 phosphate
LDH : Lactate DesHydrogénase	PK : Pyruvate Kinase
LHS : lipase hormono-sensible	PKA : Protéine Kinase A
MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase	PKB : Protéine Kinase B
MAPKK : Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase	PPAR- α : Peroxisome proliferator-activated receptor alpha
MAPKKK : Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase	pPKB : Protein Kinase B phosphorylée
MEK : MAPK/ERK kinase	PUFA : Poly Unsaturated Fatty Acid
mGPDH : glycérophosphate déshydrogénase mitochondriale	PVDF : PolyVinylidene DiFluoride
miARN : micro acide ribonucléique	Pyr : pyruvate
mSos : son of sevenless	PYY : Peptide YY
mTOR : mammalian Target Of Rapamycin	Raf : Rapidly accelerated fibrosarcoma
MTTP : microsomal triglyceride transfer protein	RIA : Radio Immuno Assay

RPE : Rating of Perceived Exertion	TNB : 2-nitro-5-thiobenzoate
RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium	TNF α : Tumor Necrosis Factor α
RR : risque relatif	Tris : Trishydroxymethylaminomethan
SDS : Sodium Dodecyl Sulfate	TSC1 : Tuberous Sclerosis Complex 1
SH : Groupement sulhydrile	TSC2 : Tuberous Sclerosis Complex 2
SH2 : Src Homology 2	V0 : respiration basale
SH3 : Src Homology 3	VES : Volume d'Ejection Systolique
SNAP : synaptosomal associated protein	VMA : Vitesse Maximale Aérobie
SNARE : Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REceptor	Vmax : respiration maximale
SREBP-1c : Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c	VO ₂ : consommation d'oxygène
SVF : Sérum de Veau Fœtal	VO _{2max} : consommation d'oxygène maximale
TBS-Tween : Tris-Buffered Saline-Tween	VO _{2pic} : consommation d'oxygène pic
TFAM : Mitochondrial transcription factor A	

INTRODUCTION

La prévalence des maladies métaboliques ne cesse d'augmenter, surtout dans les sociétés occidentalisées. La prise en charge et le traitement de ces pathologies représentent un coût financier très important pour les pays concernés mais également un coût humain lié à l'augmentation de la mortalité associée à ces maladies. Afin de mieux comprendre les mécanismes potentiellement impliqués dans le développement de ces pathologies, de nombreux travaux se sont intéressés au pancréas et à l'insuline ainsi qu'à l'action de celle-ci sur ses tissus cibles. Les causes de ces dysfonctions métaboliques sont multiples. La génétique et l'hérédité familiale en sont une, tout comme l'environnement et les habitudes de vie de l'individu. Ainsi, des facteurs tels que la nutrition et l'exercice physique vont jouer un rôle non négligeable, en modulant positivement ou négativement l'homéostasie énergétique. La pratique d'une activité physique régulière est recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé pour son action bénéfique sur la réduction de l'incidence et de la prévalence de nombreuses pathologies métaboliques. L'exercice physique est également recommandé chez la femme enceinte en cas de grossesse non pathologique car il réduirait la prise de poids et le risque de diabète gestationnel, de prééclampsie et de complications à la naissance, et améliorerait le bien-être et la santé psychologique de la mère. Aux Etats-Unis, 65,6 % des femmes enceintes ont pratiqué une activité physique de loisirs dans le mois précédent l'étude. Parmi celles-ci, 15,8 % ont atteint le seuil de recommandation (au moins 30 min d'activité modérée, 5 fois par semaine ou au moins 20 min d'activité vigoureuse, 3 fois par semaine).

Des études épidémiologiques récentes ont suggéré que l'environnement lors des premières phases de la vie de l'individu avait également un rôle non négligeable dans la survenue de pathologies telles que le diabète de type 2, l'obésité, l'hypertension, les maladies cardio-vasculaires ou le syndrome métabolique. Ces études ont abouti à la définition du concept scientifique des DOHaD. A ce jour, de nombreuses études ont été effectuées dans ce domaine et il est maintenant clairement établi que des facteurs tels que la nutrition, l'obésité, le diabète, le stress, la chaleur ou encore l'activité physique de la mère lors de la grossesse et/ou l'allaitement vont jouer un rôle dans la survenue de

diverses pathologies chez la descendance. Toutefois, de nombreuses questions restent en suspens. Si les conséquences à long terme de la nutrition maternelle sur la descendance ont été largement étudiées, les études portant sur l'exercice physique périnatal sont plus rares, restent très descriptives et se sont surtout intéressées à ses conséquences sur la mère et le fœtus ou le nouveau-né. Or, les maladies métaboliques apparaissent en général à l'âge adulte et rarement dans les premières phases de la vie de l'individu. L'objectif de cette thèse était donc d'étudier les conséquences de l'exercice physique maternel périnatal sur la santé future de la descendance, en portant une attention particulière à sa composition corporelle, sa fonction pancréatique et à l'homéostasie glucidique et lipidique, à court terme mais également à plus long terme, à l'âge adulte.

I. Le pancréas, l'insuline et l'homéostasie énergétique

L'augmentation croissante de la prévalence de l'obésité et du diabète de type 2 constitue un enjeu de santé publique majeur au niveau mondial (Figure 1). Afin de mieux prendre en charge les patients et de prévenir la survenue de ces pathologies, la compréhension des mécanismes impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique est indispensable. Dans ce contexte, une attention toute particulière est portée à l'étude du pancréas, de l'insuline et de son action sur différents tissus de l'organisme. Les facteurs environnementaux pouvant influencer positivement ou négativement la sécrétion et l'action de l'insuline sur ses tissus cibles font également l'objet de nombreuses recherches.

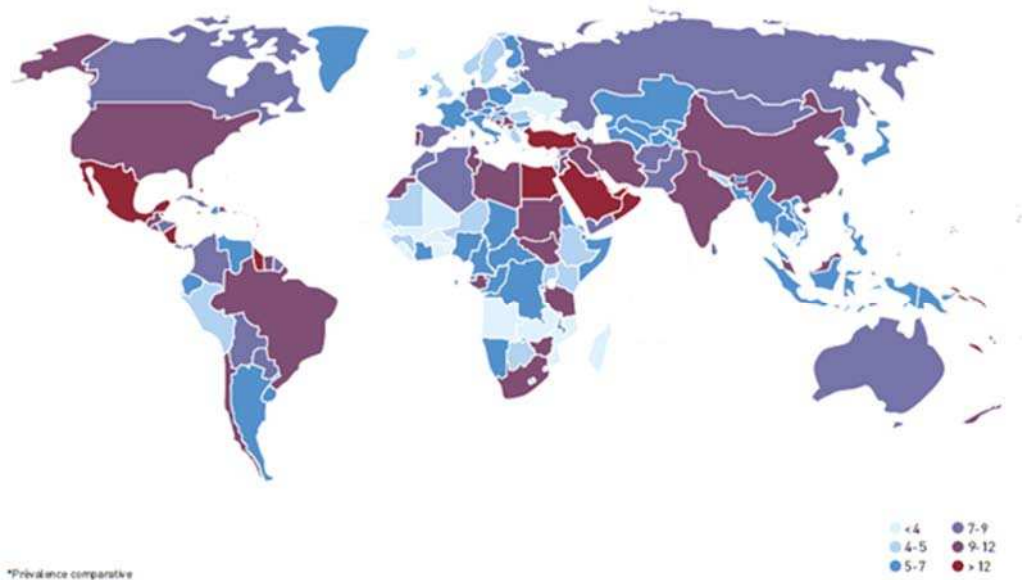
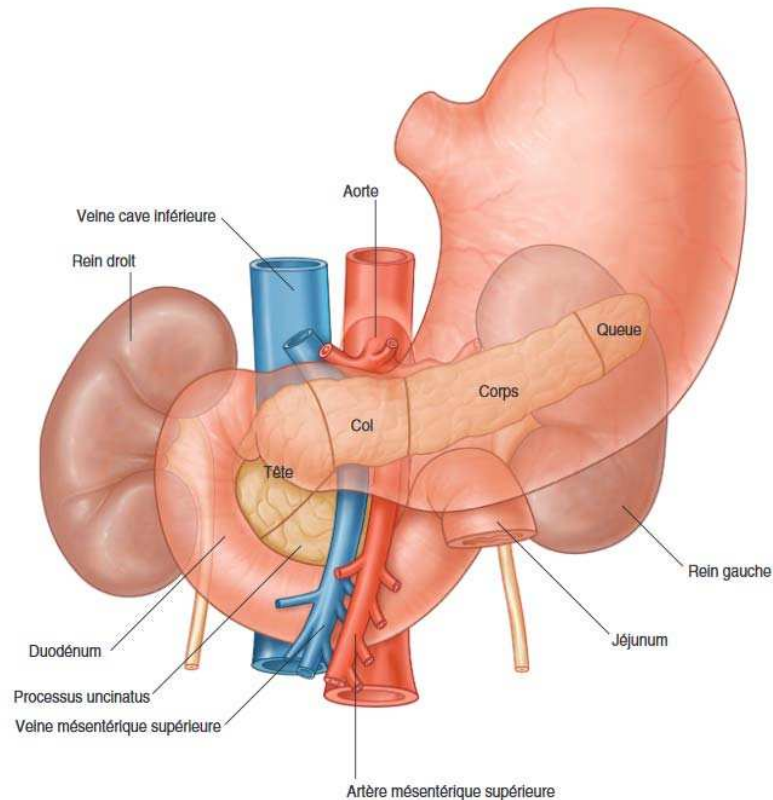


Figure 1. Prévalence du diabète dans le monde en 2013 chez les adultes âgés de 20 à 79 ans (Fédération Internationale du diabète 2013)

1. Le pancréas

Le pancréas est un organe divisé en 4 parties (la tête, l'isthme/le col, le corps et la queue) (Figure 2) et constitué de deux glandes : une glande exocrine et une glande endocrine.



Partie 1 : Les organes - Chapitre 7 : Pancréas - Page 3/17

Figure 2. Anatomie du pancréas (Beaugerie and Sokol 2014).

La glande exocrine, composée d'acini, sécrète les enzymes pancréatiques dans le tube digestif alors que la glande endocrine sécrète des hormones dans le sang. Les cellules endocrines du pancréas sont généralement regroupées en structures appelées îlots de Langerhans (Figure 3). Le pancréas contient environ 1 million d'îlots de Langerhans mais ils ne représentent que 1% de la masse du pancréas. Les cellules endocrines du pancréas sont de 5 types : les cellules α qui produisent le glucagon, les cellules β qui produisent l'insuline, les cellules δ qui produisent la somatostatine, les cellules PP qui

produisent le polypeptide pancréatique et les cellules ϵ qui produisent la ghréline. Les hormones sécrétées par les cellules α et β jouent un rôle très important dans l'homéostasie du glucose, le glucagon étant une hormone hyperglycémiant alors que l'insuline est hypoglycémiant.

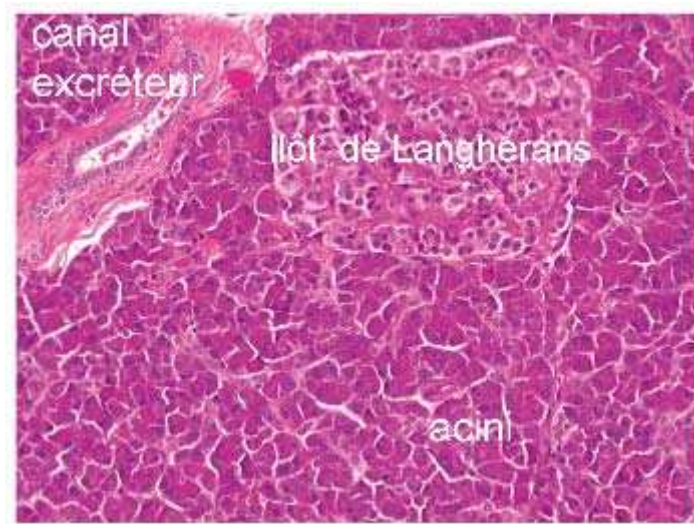


Figure 3. Histologie du pancréas (Beaugerie and Sokol 2014).

2. La production de l'insuline

L'insuline est le seul facteur hypoglycémiant de l'organisme, d'où son importance dans le contrôle de l'homéostasie énergétique. Cette hormone favorise la mise en réserve du glucose, des acides gras et des acides aminés. L'insuline est un hétérodimère, composé de deux chaînes polypeptidiques A et B reliées par des ponts disulfure. La forme monomérique de l'insuline est sa forme active. Il existe une forme de stockage de l'insuline composée de trois dimères formant un hexamère. Les hexamères d'insuline sont stockés dans les granules de sécrétion sous forme de cristaux. (Magnan 2005). En plus de son action hypoglycémiant, l'insuline a aussi une action anabolique. Elle stimule la synthèse protéique et l'entrée des acides aminés dans les cellules, inhibe les dégradations protéiques et est essentielle à la production d'Insulin-like growth factor-1 (IGF1), produit sous le contrôle de l'hormone de croissance (Growth Hormone, GH).

2.1. La synthèse de l'insuline

L'expression du gène de l'insuline est quasi exclusive aux cellules β du pancréas bien que certains neurones de l'hypothalamus seraient également capables d'exprimer ce gène et de sécréter de l'insuline (Gerozissis 2003). Le glucose est l'agent stimulant de la synthèse d'insuline le plus puissant. Il augmente la transcription du gène de l'insuline qui peut aussi être stimulée par certaines hormones telles que la GH, la prolactine ou la leptine. L'expression du gène de l'insuline va contrôler la synthèse d'un précurseur : la pré-pro-insuline. Cette dernière va être transformée en pro-insuline par des enzymes protéolytiques dans le réticulum endoplasmique. La pro-insuline est convertie en insuline dans des microvésicules grâce à l'action des endopeptidases. L'insuline est ensuite maturée dans des vésicules de Golgi (Magnan 2005).

2.2. La sécrétion de l'insuline (d'après (Magnan 2005))

La sécrétion d'insuline est proportionnelle à la glycémie. Le glucose sanguin entre dans la cellule β du pancréas via le transporteur du glucose GLUT2 chez les rongeurs et GLUT1 chez l'Homme, selon son gradient de concentration. Le glucose va être dégradé par la glycolyse et la chaîne respiratoire pour former de l'ATP, conduisant à l'augmentation du rapport ATP/ADP cytosolique. Cette augmentation va entraîner la fermeture des canaux K^+ dépendants de l'ATP, provoquant alors une dépolarisation de la membrane plasmique de la cellule β . Cela va entraîner l'ouverture de canaux calciques et l'entrée de calcium dans le cytoplasme. L'élévation de la concentration en calcium va provoquer l'exocytose des vésicules de sécrétion d'insuline. L'insuline peut également être sécrétée par une deuxième voie d'exocytose des vésicules d'insuline. Celle-ci fait intervenir l'AMPc, produit à partir de l'ATP. Cet AMPc va activer l'exocytose des vésicules d'insuline via la protéine kinase B (PKB). Dans les deux cas, cette exocytose se fait en deux temps : la migration des vésicules sécrétoires vers la membrane plasmique de la cellule β puis la fusion des membranes des vésicules avec la membrane plasmique, libérant ainsi le contenu vésiculaire. La plupart des vésicules sont localisées dans le cytoplasme, associées au cytosquelette qui va être impliqué dans leur exocytose, tout comme un certain nombre d'acteurs protéiques comme des protéines de type Rab, des canaux calciques ou le complexe NSF/SNAP/SNARE (Figure 4).

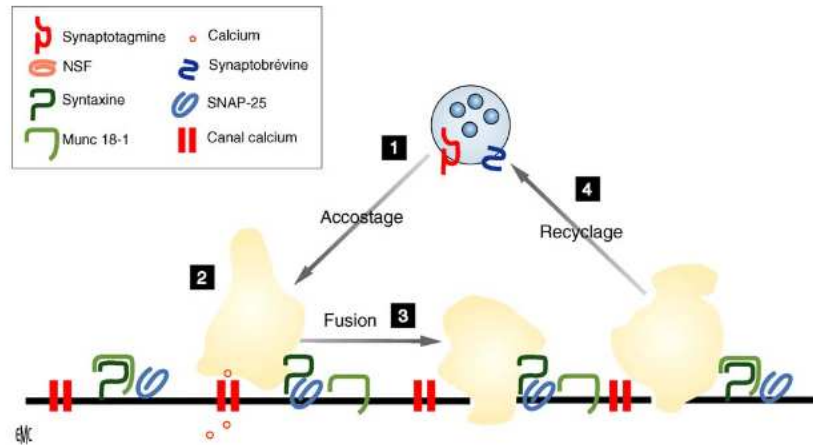


Figure 5 Principales protéines impliquées dans le processus d'exocytose. Les vésicules sont libres dans le cytoplasme (1) ou accolées à la membrane (2), via l'interaction entre des SNARE (synaptobrevine, SNAP-25, syntaxine) localisées à la surface des vésicules ou de la membrane. Lors de l'entrée de calcium dans la cellule, la fusion des vésicules avec la membrane plasmique se produit (3). Après la fusion, les granules peuvent être recyclés et fusionner avec d'autres granules contenant l'insuline (4). NSF : *N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein* ; SNAP-25 : *25-kDa synaptosomal-associated protein*.

Figure 4. Protéines impliquées dans l'exocytose de l'insuline (Magnan 2005).

La sécrétion d'insuline se fait selon deux pics. Le premier pic de sécrétion, appelé "pic précoce", est dû à un pool de vésicules accolées à la membrane (environ 1% des vésicules) immédiatement mobilisable. Celui-ci va sensibiliser les tissus cibles (muscles squelettiques, cœur et tissu adipeux) à l'effet de l'insuline et stopper la production de glucose hépatique. Ce pic précoce va être suivi par un "pic tardif" dans les minutes qui suivent sous la forme d'une augmentation progressive de la libération d'insuline, permettant une activation prolongée des tissus insulino-sensibles.

Les substrats circulants (principalement le glucose mais aussi les acides aminés, les acides gras non estérifiés et les corps cétoniques) vont stimuler la sécrétion d'insuline, qui va ensuite réguler leurs concentrations en les abaissant (Figure 5). Des agents modulateurs vont agir sur cette boucle élémentaire de régulation de sécrétion de l'insuline afin d'amplifier ou d'atténuer la réponse sécrétoire aux substrats circulants. Parmi ces agents modulateurs, on va retrouver des agents stimulants et des agents atténuateurs (Figure 5). Les agents stimulants se classent en deux groupes : les stimuli primaires ou déclencheurs qui provoquent à eux seuls la sécrétion d'insuline comme le glucose et les stimuli secondaires ou amplificateurs qui n'ont pas d'effet direct sur la sécrétion mais qui amplifient un stimulus primaire. Les agents atténuateurs vont quant à eux diminuer la sécrétion d'insuline induite par le glucose (Figure 5) (Magnan 2005).

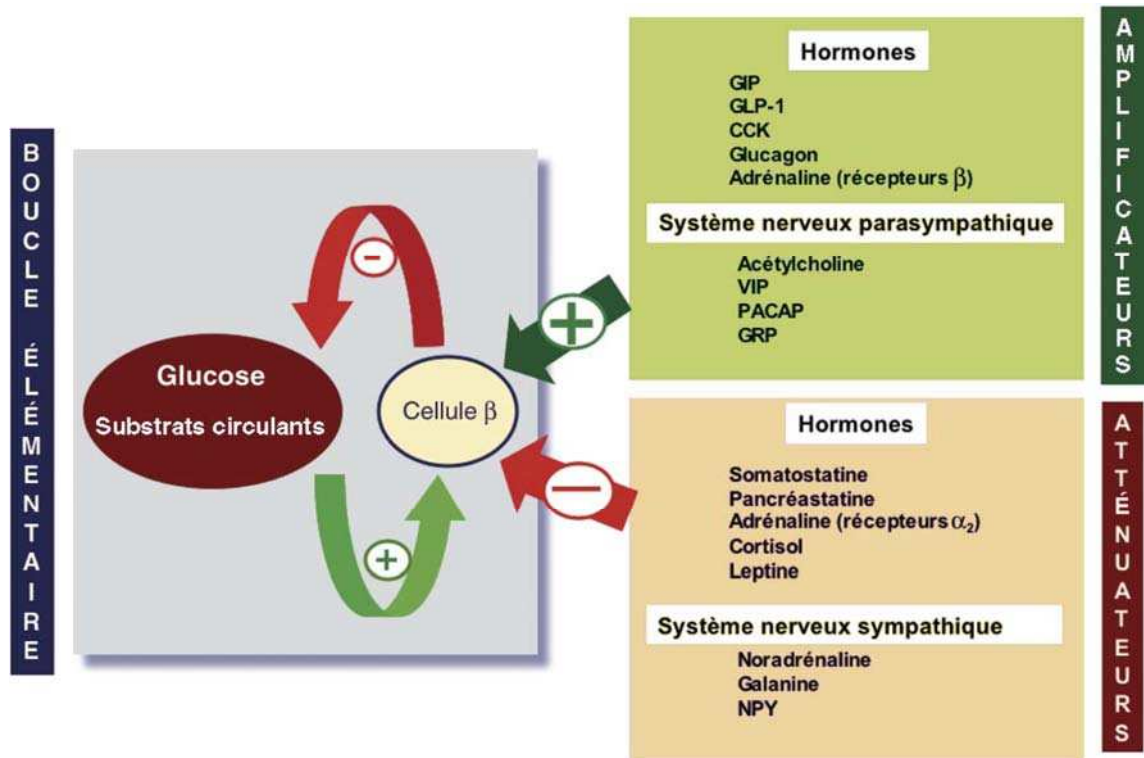


Figure 5. Agents humoraux et nerveux impliqués dans la modulation de la sécrétion d'insuline (Magnan 2005).

3. Les tissus insulino-sensibles

3.1. Le muscle squelettique

Il est considéré comme le principal tissu insulino-sensible de l'organisme car il est responsable de 80-90 % de la captation du glucose en réponse à l'insuline (DeFronzo and Tripathy 2009).

Le glucose entre dans les cellules musculaires via les transporteurs GLUT1 qui assurent le transport basal du glucose. En présence d'insuline, l'entrée du glucose est augmentée grâce à la migration des transporteurs GLUT4 au niveau de la membrane plasmique (voir paragraphe 4.) (Fladeby et al. 2003).

3.2. Le muscle cardiaque

La production d'ATP dans le cœur doit être continue afin d'assurer son fonctionnement. Cette production d'ATP se fait essentiellement par l'oxydation des acides gras, qui

représente 60-70 % de la consommation d'oxygène pour la production d'énergie dans le cœur humain (Grynberg and Demaison 1996). Cependant, lorsque la glycémie et l'insulinémie augmentent, le glucose devient la source d'énergie majoritaire. Celui-ci est transporté dans le muscle cardiaque grâce aux transporteurs GLUT1 en conditions basales et GLUT4 en réponse au signal insulinique de façon similaire au muscle squelettique.

3.3. Le tissu adipeux

Le tissu adipeux est le principal lieu de stockage des lipides et de l'énergie dans l'organisme. Les lipides peuvent être synthétisés *de novo* à partir de substrats non lipidiques, principalement les glucides, en réponse à une augmentation de l'insulinémie (Hellerstein 1999). La lipogenèse est la synthèse de triglycérides à partir d'acides gras. Ceux-ci proviennent essentiellement du foie et sont transportés par des lipoprotéines jusqu'aux adipocytes. La lipoprotéine lipase des adipocytes va alors hydrolyser les triglycérides des lipoprotéines libérant les acides gras qui seront associés à du glycerol-3-phosphate issu de la glycolyse pour former des triglycérides. En cas de détresse énergétique, les triglycérides seront hydrolysés par le processus de lipolyse, libérant ainsi des acides gras pour les tissus de l'organisme. Cette lipolyse va être inhibée par l'insuline (Kersten 2001).

3.4. Le foie

Le foie est un organe métabolique majeur, sensible lui aussi à l'insuline. Celle-ci inhibe la glycogénolyse et la néoglucogenèse hépatiques (Petersen et al. 1998). Elle va également avoir une action anti-lipolytique qui va diminuer l'oxydation des acides gras par le foie au profit de l'utilisation du glucose. Le foie est aussi le seul organe pouvant libérer du glucose dans le compartiment sanguin.

4. La signalisation de l'insuline

4.1. Le récepteur à l'insuline

L'insuline agit par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique qui possède une activité tyrosine kinase. Il est composé de deux sous-unités α et de deux sous-unités β reliées

par des ponts disulfures. Les sous-unités α sont extracellulaires et possèdent chacune un domaine de liaison à l'insuline. En l'absence de l'hormone, les sous-unités α inhibent l'activité kinase du récepteur, le maintenant ainsi dans sa forme inactive. Les sous-unités β sont transmembranaires et possèdent un domaine cytoplasmique présentant une activité tyrosine kinase. Lorsque l'insuline se fixe sur son récepteur, ce dernier change de conformation conduisant au rapprochement des deux sous-unités β , levant l'inhibition des sous-unités α et activant ainsi le récepteur. Ce changement de conformation est suivi de l'autophosphorylation des sous-unités β sur leur résidu tyrosine, entraînant l'activation totale du domaine tyrosine kinase du récepteur (Lee and Pilch 1994; Capeau 2003). Ce domaine tyrosine kinase agit avec les Insulin Receptor Substrates (IRS), fixés sur la face cytosolique de la membrane plasmique, en phosphorylant leurs résidus tyrosine spécifiques. Les IRS ainsi activés vont ensuite initier deux voies de signalisation intracellulaires que sont la voie IRS/PI3K/PKB et la voie IRS/Grb2/MAPK.

4.2. La signalisation intracellulaire

La voie IRS/PI3K/PKB

L'IRS va se lier à la phosphatidyl inositol 3 kinase (PI3K). Cette dernière est composée de deux sous-unités : une sous-unité régulatrice p85 et une sous-unité catalytique p110. La sous-unité p85 se lie à IRS. La sous-unité p110 a pour substrat le phosphatidyl 4,5 phosphate (PIP₂), un phospholipide de la membrane plasmique, qu'il va convertir en phosphatidyl 3 4,5 phosphate (PIP₃). Le PIP₃ va ensuite recruter la phosphoinositide dépendant kinase (PDK1) qui va phosphoryler la Protéine Kinase B (PKB) aussi appelée Akt (Chang et al. 2004) (Figure 6). La PKB phosphorylée devient active et va phosphoryler différents substrats du métabolisme insulino-dépendant.

La voie IRS/Grb2/ERK

L'IRS interagit aussi avec le domaine Src Homology 2 (SH2) de la Growth factor receptor bound protein 2 (Grb2), qui possède un domaine SH2 et deux domaines SH3. Les domaines SH3 de Grb2 vont reconnaître une région riche en proline de son cofacteur sevenless (mSos) et interagir avec lui. mSos va ensuite convertir Ras-GDP (située au niveau de la membrane plasmique) en Ras-GTP. Cette dernière va recruter la protéine

Rapidly accelerated fibrosarcoma (Raf) ou Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase (MAPKKK) vers la membrane plasmique, entraînant son inactivation. Raf va alors phosphoryler MAPK/ERK kinase (MEK) ou MAPKK qui va à son tour phosphoryler Extracellular signal-regulated kinase (Erk) ou MAPK et l'activer (Pruett et al. 1995) (Figure 6). Erk actif va ensuite phosphoryler des substrats impliqués dans la prolifération cellulaire.

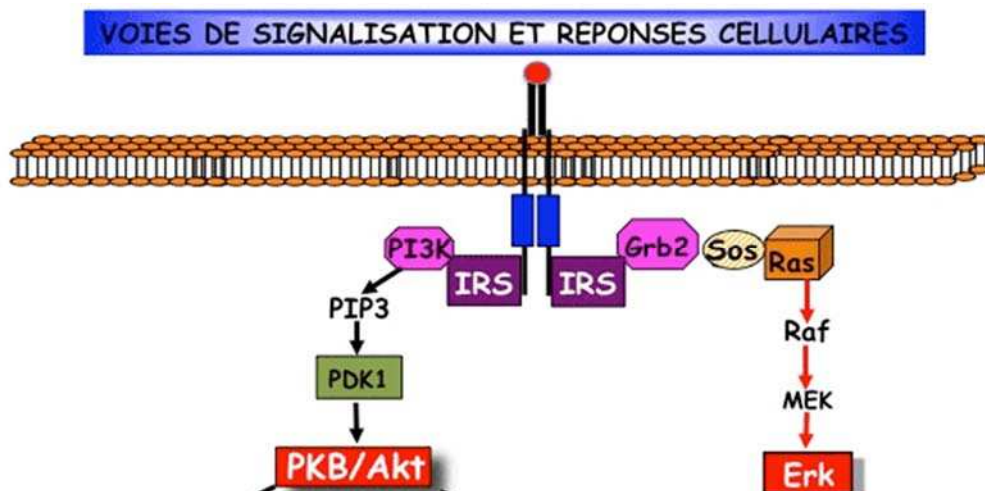


Figure 6. Voies de signalisations de l'insuline IRS/PI3K/PKB et IRS/Grb2/ERK (d'après Facbio.com).

5. Actions de l'insuline sur le métabolisme

5.1. Action sur le métabolisme du glucose

Après un repas, il va y avoir une augmentation de la glycémie et de l'insulinémie. La régulation de la glycémie fait intervenir un certain nombre de réponses métaboliques. Celles-ci vont se mettre en place via la voie de signalisation IRS/PI3K/PKB et vont entraîner une augmentation de la captation du glucose circulant, une stimulation de la synthèse de glycogène et une inhibition de la néoglucogenèse hépatique.

La captation du glucose sanguin via GLUT4 se fait au niveau des muscles squelettiques et du tissu adipeux. Lorsque PKB est activée, elle phosphoryle une protéine substrat de 160 kDa, Akt substrate of 160 kDa (AS160), située dans les membranes des vésicules

intracellulaires contenant les transporteurs du glucose GLUT4. Lorsqu'elle n'est pas phosphorylée, AS160 maintient ces vésicules dans le compartiment cellulaire. Lorsqu'elle est phosphorylée par PKB, son effet inhibiteur sur la translocation des GLUT4 ne s'exerce plus et il y a donc exocytose des GLUT4 à la surface de la membrane plasmique. Les GLUT4 transloqués au niveau de la membrane vont faire entrer le glucose circulant dans les cellules musculaires et adipeuses, contribuant ainsi à la régulation de la glycémie (Sakamoto and Holman 2008) (Figure 7). Dans le muscle, le glucose sera principalement stocké sous forme de glycogène alors que dans le tissu adipeux, il participera à la synthèse des triglycérides et des acides gras, comme vu précédemment.

La synthèse de glycogène en réponse à l'augmentation de la glycémie et de l'insulinémie se fait dans les muscles squelettiques et le foie. Elle va être stimulée par PKB via la protéine Glycogène Synthase Kinase 3 (GSK3). La GSK3 est active sous sa forme non phosphorylée. Elle va alors inhiber l'activité de la glycogène synthase (GS) en la phosphorylant. Au contraire, lorsque PKB phosphoryle GSK3, celle-ci est inactivée et ne phosphoryle donc plus la GS. Cette dernière est alors active et stimule la synthèse de glycogène (Bouskila et al. 2008) (Figure 7).

Au cours d'un jeûne, la production de glucose hépatique par la néoglucogenèse contribue au maintien de la glycémie. Le glucose est majoritairement formé à partir des acides aminés (glutamine, alanine...), du pyruvate, du lactate et du glycérol. Deux enzymes ont un rôle majeur dans la néoglucogenèse : la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) et la Glucose-6-phosphatase (G6 Pase). La PEPCK phosphoryle l'oxaloacétate pour former du phosphoénolpyruvate. La G6 Pase hydrolyse le glucose-6-phosphate en glucose libre. La transcription de leurs gènes est entre autre régulée par le facteur de transcription Forkhead box O1 (FOXO1). Au cours du jeûne, FOXO1 est non phosphorylé. Il est alors situé dans le noyau où il active la transcription des gènes de la PEPCK et de la G6 Pase. Lors de l'élévation de l'insulinémie, la PKB est activée. Elle va alors phosphoryler FOXO1 qui va migrer vers le cytosol. Il est alors séquestré par la protéine 14-3-3 et la transcription des gènes de la PEPCK et de la G6 Pase est inhibée, tout comme la néoglucogenèse (Matsuzaki et al. 2003; Gross et al. 2008; Tzivion et al. 2011) (Figure 7).

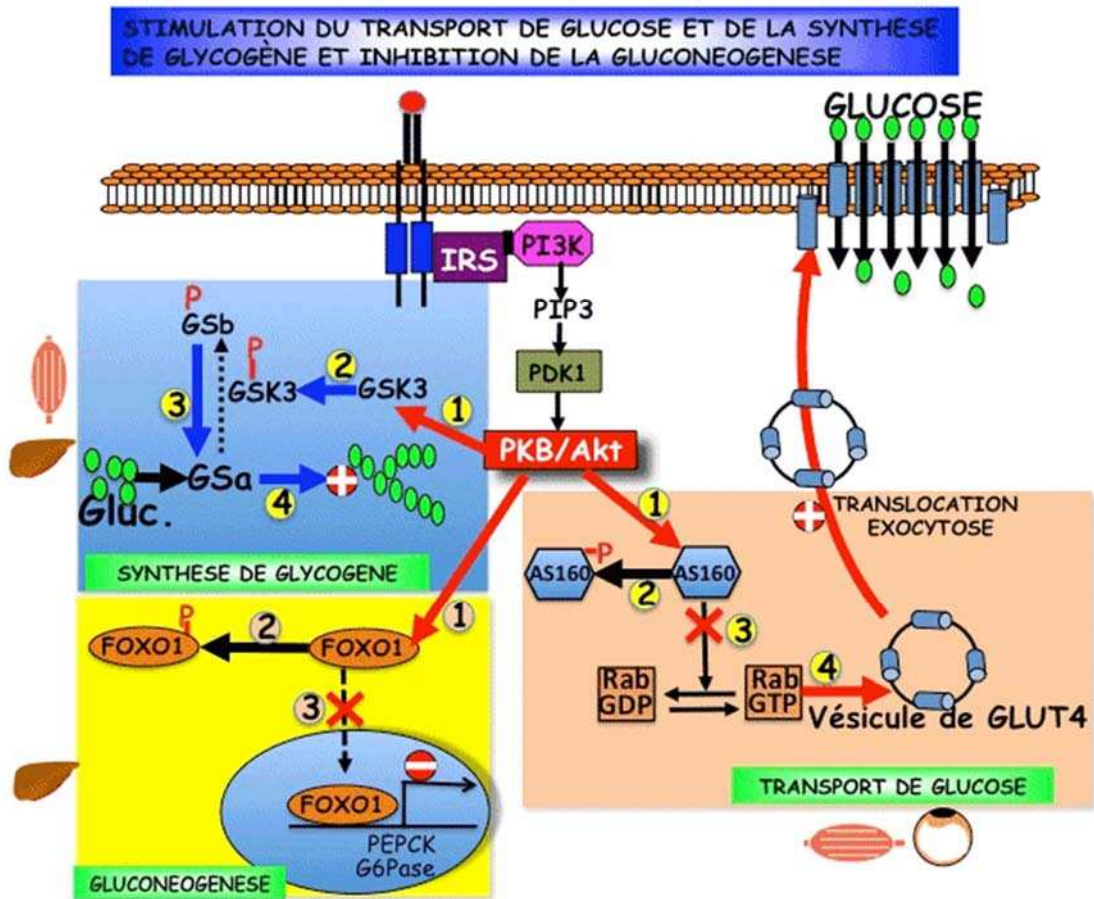


Figure 7. Voie IRS/PI3K/PKB et métabolisme glucidique (d'après Facbio.com).

5.2. Action sur le métabolisme des lipides

Le signal insulinaire et l'activation de la PKB vont inhiber la lipolyse. En effet, la phosphorylation de PKB permet la phosphorylation de la phosphodiesterase 3B (PDE3B) dont l'activation permet la conversion de l'AMPc en 5'AMP. La quantité d'AMPc intracellulaire va donc diminuer. Cette diminution est connue pour inhiber la Protéine Kinase A (PKA) et la lipase hormono-sensible (LHS) et donc la lipolyse (Lafontan M 1999).

La phosphorylation de PKB en réponse à l'augmentation de la glycémie et de l'insulinémie va également stimuler la lipogénèse dans le tissu adipeux. La phosphorylation de PKB va activer mammalian Target Of Rapamycin (mTOR). L'activation de mTOR va entraîner la translocation du facteur de transcription Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c (SREBP-1c) vers le noyau (Laplante and

Sabatini 2010). Cette protéine va alors se lier au promoteur de deux enzymes clés de la lipogenèse : l'Acétyl CoA carboxylase (ACC) et la Fatty Acid Synthase (FAS), augmentant alors l'expression de leurs gènes. Ces deux enzymes vont synthétiser des acides gras à partir d'Acétyl CoA. Dans le foie, l'insuline active directement ACC et FAS qui vont alors stimuler la lipogenèse hépatique (Strable and Ntambi 2010).

5.3. Action sur le métabolisme des acides aminés

Le signal insulinique et la phosphorylation de PKB vont stimuler la synthèse protéique. La PKB active va phosphoryler le complexe Tuberous Sclerosis Complex 1 et 2 (TSC1-TSC2) qui est un inhibiteur de l'initiation de la synthèse protéique. Sa phosphorylation par PKB va inhiber son activité, ce qui va stimuler la synthèse protéique (McManus and Alessi 2002). Au niveau du muscle, l'insuline ne stimule pas à elle seule la synthèse protéique mais réduit de manière dose-dépendante la dégradation protéique musculaire (Meek et al. 1998).

6. Modulation de la voie de signalisation de l'insuline par l'environnement

L'augmentation de la glycémie et de l'insulinémie ne sont pas les seuls éléments qui vont agir sur la voie de signalisation de l'insuline. En effet, celle-ci va également pouvoir être modulée par des facteurs environnementaux tels que la nutrition ou l'activité physique.

6.1. Profil en acides gras alimentaires et insulino-résistance

La sensibilité à l'insuline des tissus va être modifiée par le profil en acide gras (AG) dans l'alimentation. Ainsi, de nombreuses études ont montré que l'ingestion d'AG saturés et trans était associée à une altération de la sensibilité à l'insuline et à une intolérance au glucose. Au contraire, la consommation d'AG oméga-3 est associée à une amélioration de l'insulino-sensibilité, à une diminution des altérations du métabolisme du glucose et à des taux réduits de diabète de type 2 (Siri-Tarino et al. 2010). Le profil alimentaire en AG va avoir une influence sur la composition en AG des membranes cellulaires. Cela va modifier la transduction du signal insulinique. Ainsi, des

membranes majoritairement composées d'AG saturés sont associées à une insulino-résistance alors que celles dont la majeure partie est constituée d'AG insaturés ont un rôle protecteur contre l'insulino-résistance (Storlien et al. 1996). En effet, les AG poly-insaturés (principalement acide eicosapentaénoïque (EPA) et acide docosahexaénoïque, (DHA)) vont augmenter la fluidité de la membrane, le nombre de récepteurs à l'insuline et ainsi améliorer l'action de l'insuline (Coelho et al. 2011). De plus, les régimes riches en graisses (high-fat) vont réduire l'expression des gènes codant pour les transporteurs du glucose (GLUT1 et GLUT4) dans le tissu adipeux et le muscle. Cette réduction sera toutefois atténuée lorsque le régime riche en AG est composé de grandes quantités d'AG oméga-3.

6.2. Exercice physique et insulino-résistance

Les premiers effets de l'exercice sur le métabolisme du glucose se font au niveau des GLUT4 plutôt qu'au niveau de la voie de transduction IR/IRS/PI3K (Wojtaszewski et al. 2000). Ainsi, l'entraînement est associé à une augmentation rapide de l'expression de GLUT4 et de ses ARNm dans le muscle squelettique (Kraniou et al. 2006). Les effets de l'exercice physique sur les IRS sont extrêmement variés et très controversés dans la littérature. Ils semblent être fortement dépendants du type d'exercice, de la condition physique ou encore des apports alimentaires (pour revue, voir (Hawley and Lessard 2008)). En revanche, de nombreuses études ont établi un lien entre une augmentation de l'activité de PI3K et une amélioration de l'insulino-résistance, associée à une augmentation de la captation du glucose sanguin. Ainsi, l'amélioration de la captation du glucose sanguin en réponse à l'insuline induite par l'entraînement est généralement attribuée à l'augmentation de l'activité de PI3K plutôt qu'à celle de l'expression des IRS (Hawley and Lessard 2008).

L'amélioration de la sensibilité à l'insuline induite par l'exercice va également être liée à l'augmentation des capacités oxydatives du muscle squelettique. L'entraînement physique va ainsi augmenter l'expression de protéines impliquées dans la biogénèse mitochondriale, comme Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1-alpha (PGC1- α) ou Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR- α) (Hawley and Lessard 2008; Jung S. 2014). Il va également augmenter l'activité de la Carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1) ainsi que l'oxydation des lipides, qui seront alors moins stockés dans les tissus, comme le muscle squelettique (Bruce et al. 2007). Or,

l'accumulation de lipides intra-cellulaires pourrait inhiber la transduction du signal insulinique. L'augmentation de l'oxydation des lipides dans le muscle pourrait donc contribuer à l'augmentation de l'insulino-sensibilité induite par l'entraînement.

Chez des sujets en surpoids ou obèses ($25 < \text{IMC} < 35$) dyslipidémiques et sédentaires, un programme d'entraînement de 6 mois réduit l'insulino-résistance liée au mode de vie sédentaire. L'amélioration de la sensibilité à l'insuline est davantage augmentée pour un protocole d'entraînement de 170 min/semaine que pour 115 min/semaine, quelles que soient l'intensité et le volume d'exercice (Tableau 1) (Houmard et al. 2004).

Tableau 1. Influence du volume et de l'intensité de l'entraînement sur la sensibilité à l'insuline

Groupe expérimental	Contrôle		Faible volume Intensité modérée		Faible volume Haute intensité		Haut volume Haute intensité	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
Indice de sensibilité à l'insuline durant l'ivGTT	3,3±0,3	2,9±0,3*	2,6±0,3	4,3±0,6*	3,4±0,3	4,4±0,4*	36,0±0,3	4,7±0,5*

Faible volume - Intensité modérée : 19 km/semaine, 40-55 % VO_2 pic, 170 min/semaine

Faible volume - Haute intensité : 19 km/semaine, 65-80 % VO_2 pic, 115 min/semaine

Haut volume - Haute intensité : 32 km/semaine, 65-80 % VO_2 pic, 170 min/semaine

* $P < 0,05$ vs. Avant, dans le groupe expérimental

d'après (Houmard, Tanner et al. 2004)

6.3. Age, sexe et insulino-résistance

L'avancée en âge est associée avec une réduction de la sensibilité à l'insuline en association avec une dysfonction mitochondriale musculaire. Les réductions d'insulino-sensibilité associées à l'avancée en âge seraient principalement dues à une augmentation de l'adiposité plutôt qu'à l'âge lui-même. La réduction de la fonction mitochondriale liée à l'âge n'est quant à elle associée ni à l'adiposité ni à l'insulino-sensibilité des individus. Le sexe a également des effets sur ces paramètres. Ainsi, les hommes auraient une

capacité de production d'ATP par la mitochondrie augmentée alors que les femmes seraient plus sensibles à l'insuline (Karakelides et al. 2010).

Les comorbidités associées à l'insulino-résistance sont nombreuses, parmi lesquelles le diabète de type 2, le syndrome métabolique ou encore l'hypertension (Wilcox 2005). Les facteurs de risque de ces pathologies sont multiples. Une hérédité familiale est souvent retrouvée mais l'environnement et les habitudes de vie (nutrition, activité physique...) vont également jouer un grand rôle dans la survenue de ces maladies. Or, ces dernières années et sur la base de données épidémiologiques, il est apparu que l'environnement *in utero* lors de la vie fœtale avait également un rôle déterminant dans l'étiologie de ces désordres métaboliques.

II. Les origines développementales de la santé (DOHaD), l'environnement maternel et la programmation fœtale.

1. Les DOHaD

1.1. Définition et concept

Les "Developmental Origins of Health and Diseases" (DOHaD), ou Origines Développementales de la Santé, sont un concept scientifique proposé dans les années 1980 par David Barker, un épidémiologiste britannique. Ce concept s'appuie sur un certain nombre d'observations ayant établi un lien entre l'environnement in utero et/ou durant les premières phases de la vie (jusqu'à l'âge de 1 an environ), et l'apparition de maladies à l'âge adulte (Barker and Osmond 1986; Barker et al. 1989). Par la suite, de nombreuses études épidémiologiques et expérimentales ont confirmé, étayé et précisé cette théorie.

Les premières observations de Barker ont été faites dans le comté du Hertfordshire au Royaume-Uni. Il avait alors observé que les régions où la mortalité d'origine coronaire était la plus élevée correspondaient à celles où la mortalité infantile avait été la plus importante une cinquantaine d'années plus tôt (Barker and Osmond 1986). Des recherches approfondies lui ont permis d'établir un lien entre un faible poids à la naissance et dans les premiers mois de la vie, et une augmentation de la prévalence de certaines pathologies telles que l'hypertension, les maladies cardio-vasculaires et coronariennes ou le syndrome métabolique à l'âge adulte, et également avec une augmentation de la mortalité (Barker and Osmond 1986; Barker, Osmond et al. 1989; Osmond et al. 1993; Rich-Edwards et al. 1997; Leon et al. 1998; Eriksson et al. 1999).

Dans les années qui ont suivi, de nombreux chercheurs ont essayé de trouver une explication biologique à ces observations épidémiologiques. En 1992, Hales et Barker

ont formulé le terme de "*thrifty phenotype hypothesis*" (Hales and Barker 1992) ou hypothèse du phénotype d'épargne, dérivé de la "*thrifty genotype hypothesis*" de Neel (Neel 1962). Ce dernier a essayé d'expliquer pourquoi certains individus sont enclins à développer un diabète. Sa théorie suggère que ces personnes sont porteuses de gènes qui prédisposent au diabète. Ces gènes, historiquement avantageux, apparaîtraient comme délétères dans le monde moderne. En effet, ils ne permettraient pas une métabolisation efficace des aliments et favoriseraient le stockage de graisses durant les périodes d'abondance afin de subvenir aux besoins de l'individu pendant les périodes de pénurie (Neel 1962). L'hypothèse du phénotype d'épargne suggère que, lorsque l'environnement fœtal est pauvre en qualité ou en quantité, une réponse adaptative se met en place. La croissance du cerveau est alors privilégiée au détriment de celle des autres organes, comme le foie, le muscle squelettique ou le pancréas (Figure 8).

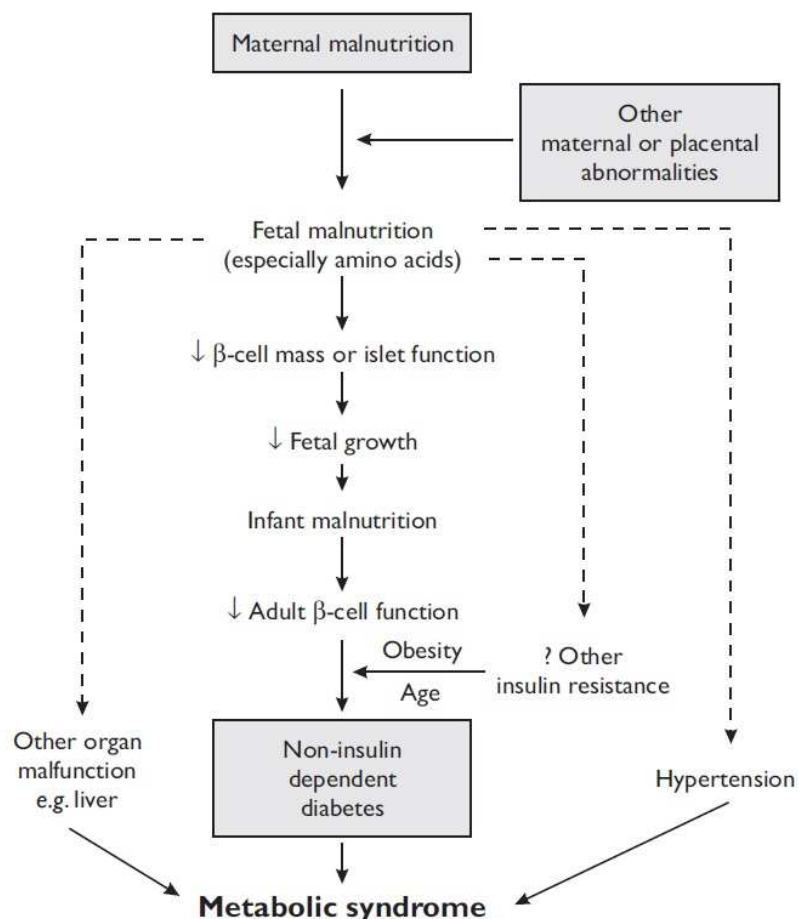


Figure 8. Représentation originale de l'hypothèse du "phénotype d'épargne" d'après (Hales and Barker 2001).

Cela va entraîner une altération du métabolisme global après la naissance. L'organisme, programmé pour augmenter la survie dans un environnement nutritionnel appauvri, stockera davantage les nutriments. Ces adaptations ne deviendront cependant délétères que si l'environnement nutritionnel postnatal est plus abondant qu'avant la naissance (Hales and Barker 1992; Hales and Barker 2001).

Si les premiers travaux réalisés dans ce domaine se sont surtout intéressés à la nutrition de la mère, le champ d'étude des DOHaD s'est ensuite élargi. Des études se sont ainsi intéressées à de nombreux autres facteurs environnementaux intervenant lors des premières phases de développement (*in utero* et jusqu'à l'âge de un an), comme l'exposition aux produits chimiques (médicaments, polluants...), le stress ou des infections de la mère (Tableau 2). Il est maintenant clairement établi que ces phases de la vie sont critiques dans la mise en place de susceptibilités à de nombreuses maladies. Cependant, ces dernières ne se révéleront que si l'individu évolue dans un environnement propice, favorisant leur survenue (mauvaise nutrition, sédentarité, ...).

Tableau 2. Environnement précoce et conséquences à l'âge adulte selon la littérature

Causes précoces	Conséquences à l'âge adulte
Restriction de croissance intra-utérine, faible poids de naissance	Diabète de type 2, surcharge adipeuse abdominale, hypertension artérielle, maladies cardio-vasculaires, maladie rénale chronique, bronchopneumopathies obstructives
Diabète gestationnel, obésité maternelle pendant la grossesse, prise de poids gestationnelle excessive	Obésité, insulino-résistance, diabète de type 2
Prématurité	Retard cognitif et moteur, diabète de type 2, hypertension
Croissance post natale ralentie	Diabète de type 2, maladies cardio-vasculaires
Croissance post natale excessive	Obésité, cancer
Exposition de la mère et du jeune enfant à des toxiques	Retard cognitif et moteur, obésité, puberté précoce, infertilité, cancer, hypertension, maladies cardio-vasculaires
Infection maternelle pendant la grossesse, infections précoces de l'enfant	Asthme, maladies cardio-vasculaires, autisme, schizophrénie
Situation psychosociale dans l'enfance difficile, carence affective	Retard cognitif et moteur, troubles émotionnels et comportementaux, obésité

d'après (Charles and Junien 2012).

L'adaptation précoce de l'individu à son environnement fait intervenir la "plasticité phénotypique". Le terme de "plasticité" désigne la capacité d'un génotype à produire différents phénotypes en réponse à des environnements variés. La plasticité est à son maximum lors des phases de développement d'un organisme et va modifier l'expression des gènes afin de produire un phénotype qui soit adapté à l'environnement futur (Gluckman and Hanson 2004). Si ce phénotype est en adéquation avec l'environnement, la santé ne sera pas affectée. Mais si ceux-ci sont discordants, l'individu sera plus susceptible de développer certaines maladies chroniques comme l'obésité, le diabète de type 2 ou les maladies cardio-vasculaires (Godfrey et al. 2007; Portha et al. 2014).

Cependant, le phénotype ne résulte pas uniquement de changements dans la séquence d'ADN. Des études incluant un très grand nombre d'individus présentant ou non un phénotype d'intérêt, ont identifié un certain nombre de variantes de l'ADN nucléaire et de ses gènes associés qui contribuent au risque de développer une pathologie donnée. Toutefois, dans la plupart des cas, chaque variante ne contribue que très faiblement au risque de développement de la pathologie. De plus, la composante génétique (toutes les variantes de l'ADN nucléaires) n'explique en général que 20% de la variance phénotypique (Wallace 2010). Par ailleurs, les mutations de l'ADN, aléatoires (Lenski and Mittler 1993; Brisson 2003) ou liées à certains toxiques (Skinner 2008; Martinez-Zamudio and Ha 2011), sont rares et insuffisantes pour expliquer des variations de phénotype. Il a également été prouvé que la prévalence de certaines maladies, comme la polyarthrite rhumatoïde ou la schizophrénie, était variable chez des jumeaux monozygotes, possédant pourtant le même patrimoine génétique (Bell and Spector 2011). De même, des études ont montré que l'incidence de certaines maladies, comme le diabète, certains cancers, les maladies de Parkinson ou d'Alzheimer, varie en fonction de l'halogroupe des individus, donc de leur origine ethnique et géographique. Cela renforce l'idée que l'environnement régional peut avoir une influence sur la santé (Wallace 2010).

1.2. L'épigénétique

En plus des altérations de la séquence de l'ADN (mutations, délétions), d'autres mécanismes peuvent jouer un rôle dans la plasticité. Ainsi, les modifications

épigénétiques vont pouvoir se transmettre aux générations futures et influencer sur leur développement. Bien que controversée (Haig 2004; Bird 2007; Berger et al. 2009), la définition exacte du terme "épigénétique" actuellement utilisée est "l'étude des changements héréditaires de la fonction du génome sans modification de l'ADN" (The Epigenome Network of Excellence). L'ensemble des modifications épigénétiques d'une cellule est appelé épigénome.

1.2.1. L'organisation du matériel génétique

Chez les eucaryotes, l'ADN, qui est le support de l'information génétique, est enroulé autour de nucléosomes. Ces derniers sont constitués d'un octamère d'histones. Chaque octamère consiste en 2 copies d'histones H2A, H2B, H3 et H4. On trouve en plus une histone H1 qui forme un pont d'ADN entre deux nucléosomes adjacents (Figure 9) (Kouzarides 2007; Portha, Fournier et al. 2014).

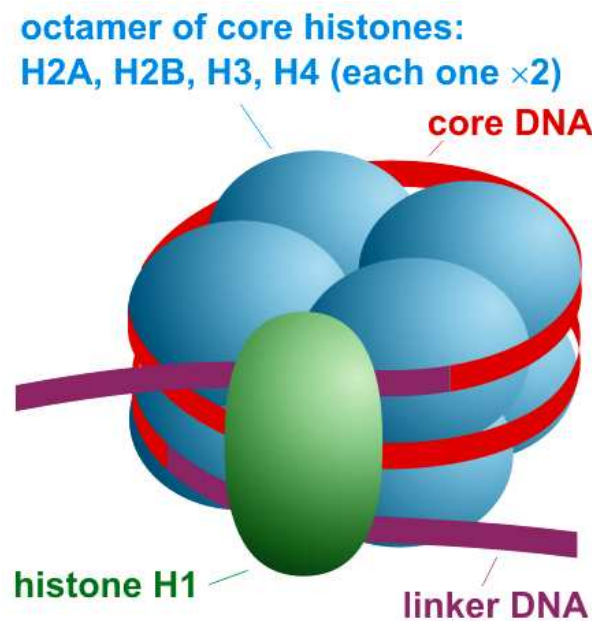


Figure 9. Schéma du nucléosome d'après (Stryer 1995).

1.2.2. Les marques épigénétiques

Les principales marques épigénétiques sont la méthylation de l'ADN, la modification des histones et les ARN non codants. Les modifications épigénétiques peuvent avoir

lieu tout au long de la vie. L'impression de marques épigénétiques sur l'ADN et/ou les histones va modifier l'expression des gènes sans altérer la séquence d'ADN. Selon le type de modification qui s'opère, les marques épigénétiques seront plus ou moins réversibles.

1.2.2.1. La méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN consiste en l'ajout d'un groupement méthyle (CH₃) sur une cytosine de l'ADN. Le transfert des groupements méthyle est catalysé par les ADN méthyl-transférases (DNMTs) (Goll and Bestor 2005). Chez les mammifères, les méthylations sont la plupart du temps situées au niveau de dinucléotides CpG (une cytosine suivie d'une guanine). Dans le génome, les dinucléotides CpG sont rares, sauf au niveau des îlots CpG qui correspondent généralement à des régions promotrices de gènes (Illingworth and Bird 2009) (Figure 10). Si les îlots CpG sont, dans la grande majorité, non méthylés, leur méthylation entraîne en général une inactivation du gène et donc une réduction de sa transcription en ARN (Illingworth and Bird 2009; Portha, Fournier et al. 2014). (Figure 10).

La méthylation de l'ADN va jouer un rôle crucial lors des phases de développement des mammifères. Après la fécondation, les matériaux génétiques du père et de la mère sont déméthylés. Les DNMTs *de novo* vont ensuite établir des méthylations de l'ADN dans les premiers stades de développement de l'individu et vont assurer le maintien de ces méthylations sur les générations cellulaires subséquentes (Smith and Meissner 2013).

1.2.2.2. Les modifications des histones

L'extrémité N-terminale de chaque histone peut subir différents types de modifications covalentes : méthylation des lysines et des arginines, acétylation des lysines, ubiquitinylation et sumoylation des lysines, phosphorylation des serines et thréonines (Kouzarides 2007). Ces modifications vont être reconnues par des protéines régulatrices et vont entraîner des changements dans la transcription, la réplication, la recombinaison et la réparation de l'ADN. Elles vont constituer un signal de recrutement pour des effecteurs protéiques qui vont avoir des effets fonctionnels variés tels que la différenciation des cellules souches ou la modification de l'expression d'oncogènes et de suppresseurs de tumeurs pouvant augmenter le risque de cancer (Kouzarides 2007; Bannister and Kouzarides 2011).

L'acétylation des histones est généralement associée à une modification des lysines et à une activation de la transcription des gènes (Kouzarides 2007). Les niveaux d'acétylation vont être déterminés par l'activité des Histones Acétyl Transférases (HATs), qui vont catalyser l'ajout des groupements acétyl sur les lysines, et des Histones Désacétylases (HDACs) qui vont catalyser la réaction inverse (Kouzarides 2007; Portha, Fournier et al. 2014) (Figure 10).

La méthylation des histones va être associée à une modification des lysines et des arginines. Les lysines peuvent être mono-, di- ou triméthylées et les arginines mono- ou diméthylées. Les groupements méthyl sont ajoutés sur les résidus lysine ou arginine par les Histones MéthylTransférases (HMT). Les méthylations vont pouvoir activer ou réprimer la transcription des gènes (Kouzarides 2007).

1.2.2.3. ARN non codants

Les ARN non codants (ARNnc) sont des ARN issus de la transcription de l'ADN qui ne vont pas être traduits en protéines. Certains ARNnc vont jouer un rôle dans l'expression de gènes. En fonction de leur taille, ils vont être classés en deux catégories : les micro ARN (miARN) et les longs ARNnc.

Les miARN sont des régulateurs post-transcriptionnels qui peuvent s'apparier à une séquence complémentaire de l'ARNm de gènes cibles codant pour des protéines (Bartel 2009). Ils vont en général inhiber l'expression des gènes par deux mécanismes principaux : (1) la répression traductionnelle et (2) la déadénylation et la dégradation des ARNm (Shukla et al. 2011) (Figure 10).

Les longs ARNnc vont moduler l'expression des gènes en régulant l'activité et la localisation de certaines protéines. Ils vont également pouvoir être transformés en miARN ou moduler la transformation d'autres ARN. Ils vont agir par 3 mécanismes principaux : guide pour des complexes de modification de la chromatine vers leurs gènes cibles ; molécule d'échafaudage dans la réunion de complexes protéiques qui n'ont aucun domaine d'interaction commun ; interaction physique directe avec des facteurs de transcription permettant une régulation transcriptionnelle de gènes cibles. Ils pourraient également se lier avec des miARN, les empêchant ainsi de jouer leur rôle, ce qui aura pour effet de réguler la synthèse protéique (Wilusz et al. 2009).

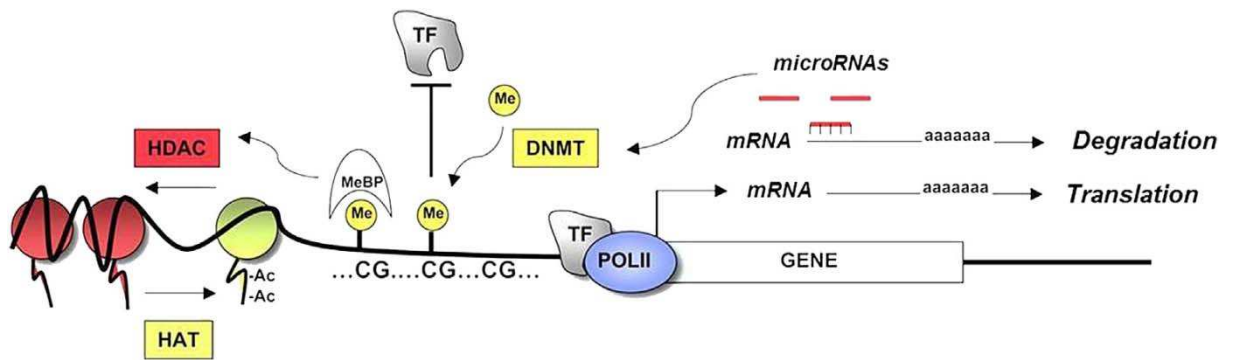


Figure 10. Régulation épigénétique de l'activité d'un gène d'après (Portha, Fournier et al. 2014).

2. Environnement gestationnel et programmation fœtale

2.1. La nutrition maternelle

2.1.1. Les études épidémiologiques

Dans le cadre des DOHaD, beaucoup d'études se sont intéressées aux conséquences d'une nutrition maternelle pauvre, en quantité et en qualité, durant la grossesse sur la santé future de la descendance. Ces travaux ont été menés sur la base des études épidémiologiques de David Barker qui avait observé que les régions où la mortalité coronaire était la plus importante étaient également celles où la mortalité infantile avait été la plus élevée une cinquantaine d'années auparavant (Barker and Osmond 1986; Barker, Osmond et al. 1989). La plupart du temps, les études portant sur la nutrition maternelle et ses conséquences sur la descendance rapportent une diminution du poids de naissance de la descendance (Wu et al. 2012; Papathakis et al. 2016) ainsi que de la taille de certains organes comme le pancréas, le rein ou le muscle squelettique. La raison principale invoquée afin d'expliquer ces observations est celle du "phénotype d'épargne" (Hales and Barker 1992; Hales and Barker 2001). Elle suggère qu'en réponse à cet environnement nutritionnel appauvri, le fœtus met en place des réponses adaptatives en redistribuant le flux sanguin vers le cerveau au détriment des autres organes dont les apports en glucose et en oxygène vont être diminués et la croissance freinée (Hales and Barker 1992; Barker 1998; Hales and Barker 2001). Dans ce cas, le poids de naissance seul ne permet pas de distinguer les bébés maigres ou nés avec un retard de croissance de ceux petits mais gras. La taille du nouveau-né et son périmètre

crânien doivent donc être considérés avec attention. En effet, un bébé né avec un petit tronc et un large périmètre crânien (correspondant au "phénotype d'épargne") aura probablement souffert *in utero* de malnutrition ou d'hypoxie par exemple. Des études ont également montré que la réduction de la prise alimentaire chez la femme enceinte entraînait une diminution de ses taux d'Insulin-like Growth Factor (IGF) circulants. La diminution d'IGF circulants chez la mère va entraîner une réduction des concentrations en insuline et en IGF fœtales, associées à une réduction du transfert des acides aminés et du glucose au fœtus pouvant entraîner, à terme, une diminution de sa croissance (Oliver et al. 1993). De nombreux auteurs établissent un lien entre une nutrition maternelle appauvrie, un faible poids de naissance et la survenue de pathologies métaboliques chez la descendance. Dans la cohorte du Hertfordshire, 16000 hommes et femmes nés entre 1911 et 1930 ont été suivis de la naissance à aujourd'hui. Les décès liés à une pathologie coronarienne étaient diminués par 2 pour ceux dont le poids de naissance était situé aux extrémités supérieures de la courbe de répartition du poids de naissance par rapport à ceux situés aux extrémités inférieures de la courbe (Osmond, Barker et al. 1993). Dans une étude conduite chez des indiens âgés de 45 ans, la prévalence des accidents coronariens passait de 18% pour ceux dont le poids de naissance était de 2,5 kg à seulement 4% chez ceux pour qui il était de 3,2 kg ou plus (Stein et al. 1996) alors que dans la cohorte de Sheffield, le ratio standardisé de mortalité coronarienne (moyenne nationale à 100) passait de 138 pour les hommes mesurant 47 cm ou moins à la naissance à 98 pour les autres (Martyn et al. 1996). Cette association entre faible poids de naissance et survenue de pathologies coronariennes a été retrouvée dans de nombreuses autres cohortes en Suède, au Pays de Galles (Frankel et al. 1996) et aux Etats-Unis (Rich-Edwards, Stampfer et al. 1997). Une étude sur des hommes finlandais a par ailleurs montré qu'un faible index pondéral ($<25 \text{ kg/m}^3$) à la naissance doublait le risque de mortalité coronarienne par rapport à un index pondéral $>29 \text{ kg/m}^3$ (Forsen et al. 1997). Ainsi, un petit poids ($<2,5 \text{ kg}$) et un faible index pondéral ($<25 \text{ kg/m}^3$) à la naissance sont associés à une augmentation du risque cardio-vasculaire à l'âge adulte (Barker, Osmond et al. 1989; Barker et al. 1993; Osmond, Barker et al. 1993; Frankel, Elwood et al. 1996; Frankel et al. 1996; Martyn, Barker et al. 1996; Stein, Fall et al. 1996; Barker 1998; Leon et al. 2000; McMillen and Robinson 2005) même si cette association est parfois controversée (Vagero and Leon 1994; Hulman et al. 1998). Une réduction du poids de naissance augmenterait aussi la susceptibilité à développer une hypertension dans l'enfance et à l'âge adulte (Gennser et al. 1988; Margetts et al. 1991;

Barker et al. 1992; Godfrey et al. 1994; Campbell et al. 1996; Leon et al. 1996; Clark et al. 1998) et serait majorée en cas de surpoids (Barker 1998). Une revue basée sur 34 études incluant plus de 66000 individus a en effet montré que dans presque tous les cas, une augmentation du poids de naissance était associée à une diminution de la pression artérielle. Cela est vrai pour toutes les études portant sur des adultes, soit environ 8000 hommes et femmes, alors que celles portant sur des adolescents sont plus nuancées (Law and Shiell 1996). Des travaux menés à Preston, en Angleterre, ont montré que la pression artérielle systolique était fortement augmentée chez les individus âgés de 50 ans nés avec un petit poids de naissance (<2,9 kg) mais avec un poids du placenta élevé (>681 g) par rapport à ceux nés avec un poids de naissance élevé (>3,4 kg) et avec un poids du placenta faible (<454 g) (167 vs. 131 mmHg respectivement) (Barker et al. 1990; Barker, Godfrey et al. 1992). Cette hypertension est probablement due à la réduction du nombre de néphrons observée chez les individus nés avec un petit poids, qui entraînerait une rétention de sodium, donc une réabsorption d'eau et une hypertension (Brenner et al. 1988; Hinchliffe et al. 1992; Brenner and Chertow 1994; Manalich et al. 2000; McMillen and Robinson 2005) même si cette hypothèse est controversée (McMillen and Robinson 2005).

Un faible poids corporel à la naissance est également associé à un diabète de type 2, à une insulino-résistance et à une hyperinsulinémie à l'âge adulte (Barker et al. 1993; Phillips et al. 1994; Valdez et al. 1994; Leger et al. 1997; Barker 1998), avec (Hales et al. 1991; Yajnik et al. 1995; Forrester et al. 1996; Barker 1998; Ravelli et al. 1998) ou sans intolérance au glucose (Whincup et al. 1997). Dans une étude américaine, le risque relatif rapproché (odds ratio, OR) de développement d'un diabète (ajusté par rapport au poids actuel) était de 1,9 parmi les hommes dont le poids de naissance était inférieur à 2,5 kg par rapport à ceux pesant entre 3,2 et 3,9 kg à la naissance (Barker 1998). Chez les indiens Pima, ce risque relatif rapproché était de 3,8 chez les individus pesant moins de 2,5 kg à la naissance (McCance et al. 1994). Cela a également été confirmé en Suède où la prévalence du diabète était 3 fois plus élevée, avec un risque relatif rapproché de 4,4, chez les hommes dont l'indice pondéral à la naissance était dans les 20% les plus bas (Lithell et al. 1996). Une étude menée au Texas sur des mexicano-américains et des blancs non-hispaniques a montré que la prévalence du syndrome d'insulino-résistance (tolérance au glucose altérée, hypertension et hypertriglycémie) était la plus grande chez ceux dont le poids de naissance était le plus faible (Valdez, Athens et al. 1994).

Une étude française a également montré qu'un retard de croissance intra-utérin était associé à une augmentation de l'insulinémie à jeun et après ingestion de glucose chez le jeune adulte (Leger, Levy-Marchal et al. 1997). Par ailleurs, les individus exposés à la famine *in utero* (cohorte "Dutch famine") ont une glycémie et une insulinémie post-prandiales plus élevées que ceux nés avant ou conçus après la famine (Ravelli, van der Meulen et al. 1998). Ces altérations de l'homéostasie glucidique et insulinémique ont également été retrouvées dès l'enfance chez des individus nés avec un faible poids de naissance (Law et al. 1995; Yajnik, Fall et al. 1995; Forrester, Wilks et al. 1996; Whincup, Cook et al. 1997). L'association entre faible poids de naissance et insulino-résistance à l'âge adulte est probablement due à une modification de la structure et de la fonction du muscle squelettique *in utero*, liée à la réduction du flux sanguin au niveau de cet organe, (voir paragraphe précédent). En effet, une étude utilisant la spectroscopie par résonance magnétique a montré que, durant un exercice physique, les personnes minces à la naissance avaient des activités réduites de glycolyse et de production d'ATP glycolytique (Taylor et al. 1995). Le muscle squelettique réduirait donc son utilisation du glucose au profit d'autres substrats comme les acides aminés ou le lactate (Taylor, Thompson et al. 1995; Barker 1998). Le métabolisme "d'économie de glucose" mis en place *in utero* en réponse à un environnement nutritionnel appauvri pourrait donc persister à l'âge adulte. La réduction de l'utilisation du glucose dans les tissus insulino-sensibles comme le muscle squelettique pourrait ainsi être à l'origine de l'insulino-résistance observée chez les individus nés avec un petit poids. Le développement du pancréas de ces bébés est également altéré puisqu'il possède moins de cellules β (van Assche and Aerts 1979) et sécrète moins d'insuline (Wills et al. 1996). Cela reste toutefois controversé car d'autres études n'ont établi aucun lien entre réduction de la croissance fœtale et sécrétion d'insuline en réponse à une perfusion de glucose (Alvarsson et al. 1994; Phillips et al. 1994). Une insulino-résistance associée à une déficience des cellules β du pancréas pourraient conduire les individus ayant un petit poids à la naissance à développer un diabète de type 2 à l'âge adulte (Hales, Barker et al. 1991; Osmond, Barker et al. 1993; Lithell, McKeigue et al. 1996).

Ainsi, une malnutrition maternelle durant la grossesse peut entraîner une réduction du poids corporel, de l'IMC et du périmètre crânien à la naissance. Ces paramètres sont en général associés à une augmentation de la susceptibilité de la descendance à développer un certain nombre de pathologies comme le diabète de type 2, l'hypertension ou les

maladies cardio-vasculaires, surtout si le poids du placenta était élevé. (Barker, Hales et al. 1993) (Figure 11).

Chez les indiens Pima, la prévalence du diabète de type 2 est augmentée chez les individus nés avec un poids corporel supérieur à 4,5 kg (McCance, Pettitt et al. 1994). Dans une cohorte britannique, une relation positive entre le poids de naissance et l'indice de masse corporelle à l'âge de 33 ans a également été retrouvée (Parsons et al. 2001). Un poids élevé à la naissance est aussi associé à une augmentation de la prévalence de l'hypertension, de l'intolérance au glucose, du diabète de type 2 et de l'obésité à l'âge adulte (Barker 1998; McMillen and Robinson 2005). En analysant la littérature, il ressort donc que la prévalence de ces troubles à l'âge adulte en fonction du poids de naissance suivrait une courbe en U (Boney et al. 2005; Hopkins and Cutfield 2011; Capra et al. 2013) (Figure 11).

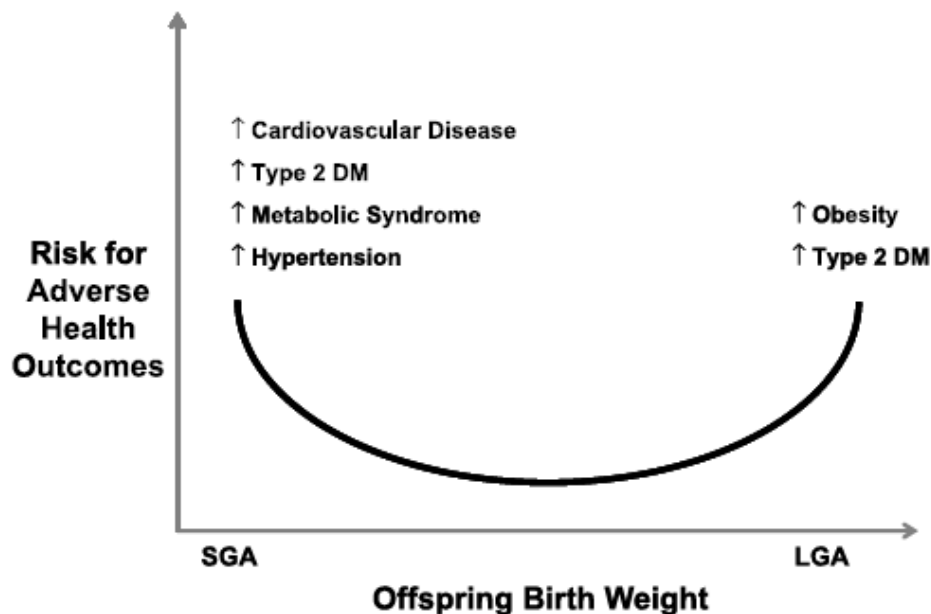


Figure 11. Courbe en U hypothétique entre le poids de naissance et le risque de survenue de maladie chez la descendance (SGA : small for gestational age ou petit pour l'âge gestationnel ; LGA : large for gestational age : grand pour l'âge gestationnel), d'après (Hopkins and Cutfield 2011).

2.1.2. Les études animales

Afin de mieux comprendre le lien entre la nutrition maternelle durant la gestation et la survenue de pathologies chez la descendance, des modèles de sous-nutrition et de sur-nutrition ont été mis au point sur différentes espèces animales. Dans ces études expérimentales, le régime alimentaire et l'environnement de vie sont parfaitement maîtrisés. Cela permet de s'affranchir des variations de ces paramètres inhérentes aux études épidémiologiques et observationnelles. Une restriction protéique chez la rate gestante (60 à 120 g/kg de nourriture) est ainsi associée à une pression artérielle supérieure chez la descendance à l'âge adulte et parfois même dès le sevrage (Langley and Jackson 1994; Langley-Evans et al. 1996; Langley-Evans et al. 1999; Manning and Vehaskari 2001; Vehaskari et al. 2001; Woods et al. 2001). Cette hypertension est probablement due à une augmentation des résistances vasculaires périphériques (Jackson et al. 2002). La répartition en acides aminés et en nutriments dans le régime alimentaire va jouer un rôle dans la méthylation de l'ADN, surtout lors de la période préimplantatoire (Kwong et al. 2000) et va ainsi influencer le devenir cardiovasculaire de la descendance (Langley-Evans 2001). Ainsi, de fortes concentrations en méthionine dans la nourriture peuvent entraîner une hyperhomocystéinémie qui perturbera l'organogénèse et la vascularisation de l'embryon via des changements de méthylation de l'ADN (Stegers-Theunissen and Steegers 2003). La restriction protéique maternelle est également associée à une diminution du nombre de glomérules (Pham et al. 2003) et de néphrons (Langley-Evans, Welham et al. 1999; Vehaskari, Aviles et al. 2001; Woods, Ingelfinger et al. 2001; McMillen and Robinson 2005) chez la descendance. D'autres études ont également rapporté une réduction du débit de filtration glomérulaire/poids du rein, suggérant une atteinte de la fonction rénale (Nwagwu et al. 2000; Woods, Ingelfinger et al. 2001). Des travaux ont aussi montré une augmentation de la concentration plasmatique en sodium, pouvant entraîner une hypertension, chez la descendance de mères soumises à une restriction protéique (Manning and Vehaskari 2001).

La sous nutrition fœtale chez le rat va également affecter le développement du pancréas. Ainsi, une insuffisance utéroplacentaire, induite par une ligature bilatérale des artères de l'utérus, est associée à une diminution de la quantité de tissu endocrine du pancréas, de la masse des cellules β et de l'insulinémie fœtale (De Prins and Van Assche 1982; Ogata et al. 1986). Lorsque les rats sous-nutris *in utero* sont nourris normalement après la

naissance, leurs îlots pancréatiques restent plus petits et le nombre de cellules β réduit (Berney et al. 1997). Une restriction énergétique globale de la mère de 50 à 70% ou la consommation d'un régime pauvre en protéines durant la gestation sont associées à une réduction du nombre de cellules du pancréas, de la masse des cellules β , du nombre d'îlots, du contenu en insuline du pancréas et de l'insulinémie du fœtus (Winick and Noble 1966; Holemans et al. 1996; Garofano et al. 1997; McMillen and Robinson 2005). La diminution du nombre de cellules β est le résultat d'une baisse de leur prolifération et d'une augmentation de l'apoptose des îlots (Snoeck et al. 1990; Dahri et al. 1991; Berney, Desai et al. 1997; Petrik et al. 1999). La restriction protéique maternelle est également associée à une diminution de la vascularisation du pancréas ainsi que de sa réponse à l'arginine et à la taurine, deux acides aminés connus pour leur action insulino-sécrétagogue chez le rat (Snoeck, Remacle et al. 1990; Hoet et al. 1992; Rasschaert et al. 1995; Cherif et al. 1998; Hoet and Hanson 1999). Cela pourrait être lié à la réduction de l'activité de la glycérophosphate déshydrogénase mitochondriale (mGPDH) observée dans les îlots d'animaux soumis à un régime isocalorique mais faible en protéines (8 % au lieu de 20 %) durant la vie fœtale et jusqu'à l'âge de 12 semaines (Rasschaert, Reusens et al. 1995).

Une étude a montré que la consommation d'un régime riche en graisses saturées chez la rate gestante et allaitante était associée à un émoussement de la relaxation des artères fémorales induite par l'acétylcholine chez la descendance adulte. A cela étaient associées une augmentation de la triglycéridémie et une réduction de la concentration plasmatique en cholestérol HDL (high density lipoprotein) ainsi qu'une diminution de la quantité de DHA et d'acide arachidonique (ARA) dans la composition des vaisseaux sanguins (Ghosh et al. 2001). D'autres travaux chez le rat ont associé la consommation d'un régime riche en graisses durant la gestation et la lactation avec l'apparition d'une insulino-résistance et d'une dysfonction des cellules β chez la descendance adulte. Celles-ci étaient précédées par une diminution du contenu en ADN mitochondrial et une altération de l'expression génique mitochondriale dans le foie et le rein de la descendance adulte (Taylor et al. 2005). Chez les rongeurs, la consommation d'un régime riche en graisses durant la gestation va donc avoir des effets négatifs sur l'adiposité, le métabolisme et la fonction cardio-vasculaire de la descendance adulte (Ghosh, Bitsanis et al. 2001; Taylor, McConnell et al. 2005; Hanson and Gluckman 2014). Elle entraînerait également la mise en place de signes précurseurs d'une stéatose

hépatique ainsi qu'une hypertrophie ventriculaire gauche (Hanson and Gluckman 2014). Généralement, la consommation d'un régime riche en graisses est associée à une obésité maternelle et/ou un diabète dont les conséquences sur la descendance sont détaillées plus bas (voir paragraphes 2.2 et 2.3).

2.2. L'obésité maternelle

L'obésité et l'hyperglycémie maternelles exposent le fœtus à une hyperinsulinémie et à une augmentation de l'adiposité (Capra, Tezza et al. 2013). L'obésité de la mère augmente également la susceptibilité de la descendance à naître avec une macrosomie ou un surpoids (Ananth and Wen 2002; Surkan et al. 2004; Catalano and Ehrenberg 2006), à devenir obèses (Whitaker 2004; Catalano and Ehrenberg 2006) et à développer des pathologies cardiométaboliques (Lawlor et al. 2004; Reynolds et al. 2013; Hanson and Gluckman 2014). Ainsi, dans une étude menée sur 8400 enfants aux Etats-Unis, il a été montré que les enfants nés de mères obèses ont 2 fois plus de risques d'être obèses à l'âge de 2 ans. La prévalence de l'obésité chez les enfants âgés de 2 à 4 ans, nés de mères ayant un IMC >30 durant le premier trimestre de grossesse, est 2,4 à 2,7 fois plus élevée que chez ceux dont la mère a un IMC normal (Whitaker 2004). De plus, le risque relatif de développer un syndrome métabolique est presque doublé chez la descendance née de mères obèses par rapport à celle née de mères non obèses (Risque relatif RR = 1,81) (Capra, Tezza et al. 2013). L'obésité de la mère favorise également la survenue de pathologies telles que l'asthme et des dermatites atopiques chez la descendance (Harpsoe et al. 2013; Leermakers et al. 2013; Pike et al. 2013). La prévalence de défaut de fermeture du tube neural est aussi augmentée chez les nouveau-nés de mères obèses (Ray et al. 2005), probablement liée au fait que la visualisation du fœtus lors de l'échographie est réduite à cause de l'adiposité abdominale de la mère (Catalano and Ehrenberg 2006).

2.3. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est une forme de diabète diagnostiquée pour la première fois lors de la grossesse. Lors d'une grossesse normale, des adaptations hormonales se

mettent en place. La sécrétion d'hormones diabéto-gènes telles que le cortisol, les œstrogènes, la progestérone, la prolactine ou l'hormone lactogène placentaire, va en effet être augmentée durant le premier trimestre de la grossesse (Weissgerber and Wolfe 2006). En milieu et fin de grossesse, l'adiposité de la mère augmente. L'accumulation de masse grasse associée à une résistance centrale à la leptine (Newbern and Freemark 2011) et à une hyperinsulinémie peuvent entraîner l'apparition d'une insulino-résistance musculaire de la femme enceinte (Buchanan et al. 1990) avec une diminution de 45 à 70 % de l'insulinosensibilité globale (Freemark 2006). Cela va avoir pour conséquence de limiter la consommation de glucose de la mère, assurant ainsi un apport suffisant en ce nutriment au niveau du fœtus en développement (Lesser and Carpenter 1994; Artal 2003). Mais cette insulino-résistance induite par la grossesse peut être révélatrice des prémices d'un épuisement des cellules β . Si l'étiologie du diabète gestationnel reste inconnue, elle est probablement le résultat d'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux qui vont entraîner des défauts de sécrétion d'insuline par les cellules β de la mère (Mottola 2008).

Le nombre de diagnostics de diabète gestationnels est en constante augmentation (Feig et al. 2008). On estime qu'environ 15% des femmes enceintes développent une intolérance au glucose dont 5 à 10 % un diabète (Oken et al. 2006; Capra, Tezza et al. 2013; Bo et al. 2016). Cela est probablement le résultat de la consommation grandissante de produits transformés à index glycémique élevé et lié au fait que le risque de développer un diabète gestationnel est augmenté chez les mères nées avec un poids de naissance faible ou trop élevé (courbe en U entre le poids de naissance et le risque de développer un diabète gestationnel à l'âge adulte) (Innes et al. 2002) ou issues de mères obèses (Clapp 2002; McMillen and Robinson 2005). L'hyperglycémie de la femme enceinte diabétique va entraîner une augmentation de la glycémie du fœtus. Ce dernier va alors tenter de réguler sa glycémie en sécrétant lui-même de l'insuline (l'insuline de la mère ne passant pas la barrière placentaire), avec des risques d'hyperinsulinémie fœtale. Dans une étude sur le mouton, l'induction d'une hyperglycémie chez le fœtus augmente de 30% sa consommation d'oxygène. Cette dernière va être corrélée au degré d'hyperglycémie mais pas à celui d'hyperinsulinémie du fœtus (Philipps et al. 1984). Une hyperglycémie fœtale chronique semble donc associée à une augmentation du métabolisme oxydatif du fœtus, pouvant entraîner une hypoxémie avec des conséquences potentielles sur le développement neural du bébé

(Eidelman and Samueloff 2002; Georgieff 2006). Une hyperinsulinémie fœtale est également associée à une augmentation de la masse grasse du fœtus et du nouveau-né issu de mère diabétique (Catalano and Ehrenberg 2006; Capra, Tezza et al. 2013). A plus ou moins long terme, la descendance de mères diabétiques aura une susceptibilité augmentée à un certain nombre de désordres métaboliques comme l'obésité, les diabètes de type 1 et 2, les maladies cardio-vasculaires, l'hypertension ou le syndrome métabolique (Mottola 2008; Capra, Tezza et al. 2013; Hanson and Gluckman 2014). En effet, le risque relatif de développer un syndrome métabolique est doublé chez les enfants nés "gros/grands" pour leur âge gestationnel (poids, taille ou périmètre crânien supérieur au 90ème percentile pour l'âge gestationnel) (RR = 2,19) et augmenté de moitié chez ceux nés de mères diabétiques (RR = 1,44) (Capra, Tezza et al. 2013).

2.4. Le stress maternel

Plus de 13% des femmes vont connaître des épisodes dépressifs durant la grossesse et durant l'année suivant l'accouchement. Le chiffre monte à 18% en ce qui concerne les syndromes anxieux (Capra, Tezza et al. 2013). Ces états sont associés à une augmentation de la sécrétion de cortisol et de corticolibérine. De plus, le placenta est un site extra-hypothalamique majeur dans la production et l'action de la corticolibérine. La production de celle-ci dans le placenta va être stimulée par le cortisol. L'exposition du fœtus à des niveaux élevés de ces hormones (notamment de corticolibérine au niveau de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien) est associée à une réduction de la taille et à une augmentation de l'adiposité centrale de la descendance âgée de 3 ans (Gillman et al. 2006). Par ailleurs, les enfants dont la mère souffre d'un syndrome dépressif anxieux présentent un moindre développement des aires corticales comme le cortex préfrontal, qui régule la programmation de l'action, le raisonnement, la mémoire de travail, l'attention et le langage (Capra, Tezza et al. 2013). La susceptibilité à certains désordres comportementaux (Wadhwa 2005) comme le syndrome d'hyperactivité avec déficit d'attention serait également augmentée chez les enfants de mères dépressives ou anxieuses (RR = 3,1) (O'Connor et al. 2003), tout comme celle à l'asthme dont le risque relatif est presque doublé chez la descendance âgée de 7 ans (RR = 1,68) (Cookson et al. 2009).

2.5. La chaleur

Des études ont montré que l'exposition de la mère à des sources de chaleur variées durant la grossesse avait des effets sur le fœtus et que ceux-ci étaient fonction du trimestre de grossesse concerné. Ainsi, l'exposition à une température extérieure chaude durant le premier trimestre et/ou à une température froide durant le troisième trimestre est associée à une réduction du poids de naissance de la descendance (Lawlor et al. 2005). Les saunas et jacuzzis sont donc à proscrire durant la grossesse et plus particulièrement durant le premier trimestre car fortement associés à une augmentation du risque de défauts du tube neural. La femme enceinte devra également veiller à contrôler sa température corporelle et soigner d'éventuelles maladies fébriles car la fièvre de la mère peut également entraîner des défauts du tube neural (Milunsky et al. 1992; Suarez et al. 2004). L'exposition à la chaleur durant la grossesse n'a néanmoins aucun effet sur l'apparition de malformations cardio-vasculaires congénitales (Judge et al. 2004).

Chez le rat, l'exposition à une température environnementale élevée (33°C vs 23°C) va diminuer la taille des portées et le poids des ratons et modifier le sexe ratio des portées avec une augmentation du pourcentage de mâles. Si cette exposition à la chaleur a lieu avant la gestation et durant la période préimplantatoire, les effets négatifs sur la descendance et sa croissance sont encore plus marqués (Hamid et al. 2012). La pratique d'un exercice physique par la rate dans des conditions chaudes (30 minutes de nage dans une eau à 40,5°C vs. 30 min à 36°C) va augmenter sa température interne et va entraîner des anomalies externes variées comme des micro/anophtalmies, des encéphalocèles, des hypoplasies mandibulaires et maxillaires ou des gastroschisis chez 69% des fœtus (Sasaki et al. 1995). Des auteurs ont également montré que, chez le porc, l'exposition à la chaleur pendant la gestation (27°C la nuit et 37°C le jour vs 15°C et 22°C) affecte négativement la thermorégulation future de la descendance en réponse à un stress thermique. En effet, les animaux exposés *in utero* à la chaleur présentent une température corporelle plus élevée en réponse à une charge thermique (34,7°C vs 22,7°C) que ceux n'ayant pas été exposés (Johnson et al. 2013).

2.6. L'hypoxie

Chez le rat, une hypoxie intermittente de courte durée à la fin de la gestation (10,5 % FiO₂, 4 h par jour, à J19 et J20 de la gestation) augmenterait la pression artérielle et la pression pulsée de la descendance adulte âgée de 3 mois via une augmentation de la balance sympatho-vagale (ratio LF/HF = basses fréquences (activité sympathique)/hautes fréquences (activité parasympathique)) (Svitok et al. 2016). Chez les rongeurs, une hypoxie chronique de 3 jours ou plus à une FiO₂ inférieure ou égale à 14 % est suffisante pour entraîner un retard de croissance fœtal (Jang et al. 2015). De plus, une hypoxie maternelle chronique durant la seconde moitié de la gestation (FiO₂ 12 % entre J10 et J20 de gestation) est, elle, associée à une réduction du débit cardiaque de la descendance âgée de 3 mois et ce, malgré une augmentation du métabolisme glucidique et lipidique au niveau cardiaque, suggérant une détérioration de la fonction mitochondriale (Hauton et al. 2015). Une hypoxie maternelle plus longue durant la gestation (FiO₂ 10,5 %, de J5 à J21 de la gestation) est quant à elle associée à une augmentation du cholestérol total, du cholestérol LDL (oxydé ou non) et des récepteurs au cholestérol oxydé et à une diminution du cholestérol HDL chez la descendance âgée de 5 mois. Ces signes potentiellement précurseurs d'athérosclérose observés chez la descendance de rates soumises à l'hypoxie sont probablement liés à une augmentation de la transcription de Nuclear Factor kappa B (NFκB) induite par l'hypoxie maternelle et à l'induction de cytokines pro-inflammatoires subséquentes (Zhang et al. 2016).

2.7. L'âge de la mère

La mortalité maternelle est augmentée lorsque la femme enceinte est âgée de plus de 35 ans. L'âge à lui seul n'explique pas cette augmentation de la mortalité. Les comorbidités associées aux grossesses tardives comme l'hypertension et le diabète jouent un rôle dans l'augmentation de l'incidence de prééclampsie, de diabète gestationnel (OR=2,63), d'accouchement prématuré (OR=1,41), de décollement de placenta et de placenta previa (OR=1,93), de césariennes (OR=1,77), d'hémorragies post-partum (OR=1,14), ou de retard de croissance intra-utérin (OR=1,28) et de trisomie 21 chez l'enfant comparativement à des grossesses pour lesquelles la mère a moins de 35 ans (van Katwijk and Peeters 1998; Jolly et al. 2000; Schmidt et al. 2012).

2.8. L'activité physique de la mère

De nombreuses études cliniques et expérimentales ont montré que l'exercice physique modéré de la mère durant la grossesse non-pathologique n'avait pas de conséquences délétères pour la santé de la mère, de la descendance et le déroulement de la grossesse (Clapp 1991; Wolfe et al. 1994; Sternfeld et al. 1995; Szymanski and Satin 2012; Platt et al. 2013). L'activité physique pratiquée durant la grossesse présente même de nombreux bénéfices sur la santé de la mère puisqu'elle diminue le risque d'excès de prise de poids, de diabète gestationnel, de prééclampsie, de naissance prématurée ou de complications lors de l'accouchement. L'exercice physique pendant la gestation va également avoir des effets positifs sur la santé psychologique de la mère en réduisant la fatigue, le stress et la dépression et en améliorant le bien-être. Pour toutes ces raisons, la pratique d'une activité physique durant la grossesse est généralement recommandée (Evenson et al. 2014).

2.8.1. Les différentes modalités d'exercice

Mottola suggère que les prescriptions d'activité physique chez la femme enceinte, dans le cas de la grossesse non pathologique, doivent suivre le principe FITT : Fréquence, Intensité, Temps/durée, Type/modalité (Mottola and Artal 2016; Mottola and Artal 2016).

Ces paramètres vont varier en fonction de la condition physique de la femme et de son niveau d'activité physique avant la grossesse et seront, bien entendu, à adapter en cas de grossesse pathologique. Les recommandations en terme d'activité physique chez la femme enceinte sont par ailleurs très variées en fonction des pays (Tableau 3). Toutefois, la plupart recommandent la pratique d'activités de type aérobie et proscrivent les activités avec risque de chute, de traumatisme et de collision (Evenson, Barakat et al. 2014).

Certains auteurs distinguent également les activités portées (comme la course) et non-portées (comme la bicyclette) (Mottola and Artal 2016), ainsi que les exercices aérobies, de résistance et ceux combinant les deux (Perales et al. 2016). En effet, les substrats préférentiels varieraient en fonction du type d'exercice. Une étude a montré que l'utilisation des glucides serait plus grande pour des exercices sous-maximaux non

portés sur cycloergomètre par rapport aux activités portées, ce qui pourrait réduire les apports en glucides au niveau fœtal (Artal et al. 1989).

Tableau 3. Recommandations en termes d'exercice physique et activités à réaliser lors de la grossesse

	Australie	Canada	Danemark	France	Japon	Norvège	Espagne	UK	USA
Intensité :									
Modérée		X	X	X		X			X
Vigoureuse		X	X						X
Débuter un programme d'exercice	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Diminuer l'intensité		X				X	X		
Echauffement		X				X	X		
Rester hydratée	X	X				X	X		
Activités aérobies	X	Peu d'impact	Dépend de durée et intensité		X	X	X	X	X
Exercices du plancher pelvien		X	X			X			
Vélo stationnaire		X					X		
Renforcement musculaire	X	X	X			X		X	
Étirements	X	X			X	X			
Marche		X			X	X	X		
Nage	X	X			X	X	X	X	

d'après (Evenson, Barakat et al. 2014).

Au contraire, d'autres travaux ont rapporté que l'entraînement physique modéré sur cycloergomètre (70-75% de la Fréquence Cardiaque maximale (FCmax)) permettait de préserver l'approvisionnement en glucose au fœtus en augmentant l'utilisation des acides gras par la mère (Wolfe et al. 2003). L'Australie, le Canada, le Danemark, la Norvège et le Royaume-Uni y ajoutent des exercices de renforcement, mais peu d'études ont

exploré l'efficacité et la sûreté d'un entraînement en force durant la grossesse (Barakat et al. 2009; O'Connor et al. 2011). Les recommandations de fréquence et de durée sont très variables en fonction des pays. Elles vont de 15 à 30 min, 3 fois par semaine pour le Canada et le Royaume-Uni à au moins 30 min d'activité modérée tous les jours pour le Danemark. Il est à noter que les recommandations de la France, établies par la Haute Autorité de Santé, n'incluent aucune indication concernant le type et la durée de l'exercice. L'intensité de l'exercice doit, dans la majorité des cas, rester modérée et est exprimée soit de manière absolue (en fonction de la fréquence cardiaque (FC), à un maximum 150 batt/min ou 60-70% FCmax), soit de manière relative (en fonction de fatigue perçue, qui doit être au maximum entre 12 et 14 sur l'échelle DP15 de cotation RPE de Borg, soit "quelque peu difficile"). Pour les femmes auparavant sédentaires qui commenceraient la pratique d'un exercice durant la grossesse, la plupart des pays recommandent de le faire uniquement en cas de grossesse non pathologique, d'augmenter progressivement la durée et la fréquence et de pratiquer cet exercice sous la surveillance d'un médecin (Evenson, Barakat et al. 2014).

2.8.2. Les conséquences pour la mère

2.8.2.1. La grossesse normale

Chez l'humain :

Exercice aérobie : Une étude basée sur une série de tests communément utilisés afin d'attester du bien-être du fœtus a montré que la pratique d'un exercice d'intensité modérée (40-59 % de la fréquence cardiaque de réserve (FCR)) ou plus intense (60-84 % FCR), en adéquation avec les recommandations actuelles, est bien toléré par les femmes enceintes actives (plus de 20 minutes d'activité au moins 3 fois par semaine) et leur fœtus (Szymanski and Satin 2012). L'effet de l'exercice durant la grossesse sur la réduction de la prise de poids de la mère serait relativement faible car retrouvé dans seulement 5 études sur 15 évaluées selon une revue récente (Perales, Santos-Lozano et al. 2016). Toutefois, l'exercice gestationnel aérobie augmente le Volume d'Ejection Systolique (VES) de la mère (Mottola and Artal 2016). De plus, la pratique de la marche, quelle que soit son intensité, durant la grossesse, a un effet positif sur la capacité aérobie et le système cardio-vasculaire de la femme enceinte. En effet, une

étude a montré que la pratique de la marche durant 25 à 40 minutes, 3 à 4 fois par semaine augmentait le pouls d'O₂ (VO₂/FC), que l'intensité de l'exercice soit faible (30 % FCR) ou vigoureuse (70 % FCR). De plus, les valeurs de VO₂ et de VCO₂ n'étaient pas modifiées avec l'avancée de la grossesse pour le groupe marchant à faible intensité et étaient même diminuées pour le groupe pratiquant la marche à intensité vigoureuse, et ce malgré leur prise de poids (Ruchat et al. 2012). Chez les femmes à faible risque de développer un diabète gestationnel, la réduction de la glycémie par l'exercice est significative dès 25 minutes de marche et jusqu'à 40 minutes, et ce quelle que soit l'intensité (30 % FCR ou 70 % FCR). Chez les femmes à fort risque de développer un diabète gestationnel, la diminution du glucose sanguin est significative pour un exercice de marche de 25 minutes à intensité vigoureuse (70 % FCR), mais pas pour des durées d'exercice plus élevées car les niveaux de glucose sanguin remontent à des valeurs similaires à celles de pré-exercice. Chez ces mêmes femmes à fort risque de diabète gestationnel, la réduction du glucose sanguin est également significative pour des exercices de marche à faible intensité (30 % FCR) mais pour des durées supérieures, de 35 à 40 minutes (Ruchat et al. 2012; Mottola and Artal 2016). Par ailleurs, il a été montré qu'un exercice de faible intensité (30% VO_{2pic}) sur ergomètre pratiqué durant la grossesse résultait en une quantité de GLUT4 dans le vaste latéral plus élevée que chez les femmes pratiquant un exercice d'intensité modérée (70% VO_{2 pic}). Cela peut suggérer une meilleure insulino-sensibilité et une captation du glucose par le muscle squelettique via GLUT4 plus importante chez les femmes gravides pratiquant un exercice régulier de faible intensité par rapport à celles pratiquant un exercice d'intensité supérieure. Toutefois, cela ne semble pas se traduire par une réduction de la glycémie à des niveaux plus bas chez les femmes pratiquant un exercice régulier de faible intensité par rapport à celle pratiquant un exercice vigoureux. En effet, une étude rapporte des diminutions de glucose sanguin similaires entre les deux groupes d'intensité et ce, quelle que soit la durée de l'exercice (Ruchat, Davenport et al. 2012). Après 40 minutes d'exercice vigoureux (70 % FCR), la glycémie de femmes en fin de gestation est plus basse que celle de femmes non enceintes (Mottola et al. 2013). Cela est probablement dû au fait que, en fin de grossesse, le fœtus utilise 30 à 50 % du glucose maternel pour sa croissance et son développement (Clapp 2002) mais également par le fait que le stockage et l'utilisation du glycogène hépatique sont diminués lors de la grossesse (Mottola, Inglis et al. 2013; Mottola and Artal 2016). L'exercice aérobie chronique (au moins 3 fois par semaine) pratiqué durant la gestation a donc des effets bénéfiques sur

la capacité aérobie et le système cardio-vasculaire de la mère et ce, quelle que soit son intensité. Il va également impacter positivement le métabolisme maternel, dérégulé durant la grossesse, en réduisant la glycémie de la mère et avec une action potentielle sur son insulino-sensibilité musculaire, via l'augmentation des GLUT4.

Des travaux se sont également intéressés aux effets d'un exercice maternel aigu durant la grossesse. Une étude a montré qu'un exercice aérobie aigu (30 min de marche sur tapis à 65 % de FCmax) pratiqué lors de la grossesse entraînait une réduction de l'insulinémie et une augmentation des concentrations sanguines en cortisol, glucagon et GH par rapport aux valeurs de repos, probablement dues à une augmentation des activités sympathosurréaliennes et neuro-humorales. Ces auteurs ont également rapporté une réduction de la glycémie et une augmentation des triglycérides plasmatiques après l'exercice, par rapport aux valeurs de repos (Bessinger and McMurray 2003). Une autre étude a montré que lors d'un exercice physique modéré (55 % VO_{2max}) de 60 minutes, la glycémie, l'insulinémie et la lactatémie de femmes enceintes diminuent plus rapidement que celles de femmes non enceintes (Soultanakis et al. 1996). Cette réduction plus rapide de la glycémie lors d'un exercice aérobie modéré durant la grossesse est probablement due à une altération de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse plutôt qu'à une augmentation de la consommation de glucose qui est un substrat peu utilisé par la mère durant la grossesse (Barakat et al. 2015).

Exercice de résistance : Les preuves sont insuffisantes concernant les bénéfices pour la mère de la pratique d'un l'exercice de résistance durant la gestation selon une revue qui a analysé 4 études randomisées (Perales, Santos-Lozano et al. 2016).

Exercice aérobie + résistance : Une revue a analysé 30 études randomisées portant sur la combinaison d'exercices aérobies et de résistance durant la grossesse (Perales, Santos-Lozano et al. 2016). Elle a rapporté un niveau de preuve fort concernant l'effet bénéfique de tels exercices sur les capacités cardio-respiratoires de la mère ainsi que sur la prévention de l'incontinence urinaire. Les niveaux de preuves sont faibles pour de nombreux autres paramètres, car non retrouvés systématiquement. Ainsi, la combinaison d'exercices aérobies et de résistance durant la grossesse a un effet discuté sur la réduction de la prise de poids de la mère, de l'incidence du diabète gestationnel, de l'hypertension et des douleurs lumbo-pelviennes, ainsi que sur la diminution du taux

de césariennes et de la durée du travail lors de l'accouchement (Perales, Santos-Lozano et al. 2016).

Chez l'animal :

Un exercice contrôlé de faible intensité (1h/jour, 5 jours/semaine, 6 m/min) chez la souris n'a pas de conséquences négatives sur le poids corporel des mères et sur leur consommation de nourriture ou encore sur la taille des portées, le poids des petits et leur survie (Platt, Charnigo et al. 2013). L'exercice intermittent de haute intensité (10 x 4 min à 85-90 % VO₂ max alternées avec 2 min de récupération active à 50-60 % VO₂ max, 5 jours par semaine) de la rate, pratiqué avant et pendant la gestation n'est pas délétère pour la mère ni pour la croissance des fœtus. Cette modalité d'exercice n'a par ailleurs pas d'effet sur le poids et la fonction systolique du cœur de la mère (Songstad et al. 2015).

2.8.2.2. La grossesse pathologique

Chez l'humain :

Les femmes les plus actives avant et/ou pendant la grossesse sont celles qui ont la prévalence la plus faible de diabète gestationnel (Dyck et al. 2002). Si le protocole d'exercice maternel durant la grossesse est suffisamment suivi (compliance >80 %), l'occurrence du diabète gestationnel et la prise de poids sont réduites et la tolérance au glucose de la mère préservée (Cordero et al. 2015). Une étude mesurant l'activité physique par questionnaires a montré que les femmes les plus actives avant et/ou durant les 20 premières semaines de la grossesse avaient un risque de diabète gestationnel réduit de 50 % (Dempsey et al. 2004). Dans une étude conduite chez des femmes enceintes obèses, l'exercice combiné à des conseils nutritionnels ne prévient pas le diabète gestationnel ni les complications néonatales comme la macrosomie mais réduit la prise de poids de la mère (Poston et al. 2015). Cet effet sur la prise de poids des femmes obèses a été retrouvé avec ou sans intervention nutritionnelle (Perales, Santos-Lozano et al. 2016). Au contraire, des études ont montré un effet positif de l'exercice (30 minutes par jour en plus de l'activité habituelle) sur la réduction du taux de diabète gestationnel, avec un effet encore plus marqué chez les femmes ayant un IMC supérieur

à 33 avant la grossesse. Dans 71% des cas, l'exercice améliore le contrôle glycémique et/ou réduit l'insulino-thérapie. L'exercice physique durant la grossesse a donc un effet bénéfique sur la réduction de la prise de poids de la mère et l'occurrence du diabète gestationnel. Ces effets bénéfiques ne sont toutefois pas toujours retrouvés dans le cas d'obésité maternelle.

Lorsque le diabète gestationnel est déjà installé, de nombreux professionnels de santé au Canada et aux Etats-Unis recommandent aux femmes enceintes qui en sont atteintes d'augmenter leur activité physique en cas de non contre-indication à la pratique et en complément du traitement classique du diabète gestationnel (Thompson et al. 2013; 2015). Une étude a montré qu'un programme de 6 semaines d'exercice sur ergomètre à bras (20 min, 3 fois/semaine, maximum 50 % VO_{2max}), associé à une thérapie nutritionnelle (24 à 30 kcal/kg/24 h; 20% protéines, 40% glucides, 40% lipides), permettait de normaliser la glycémie et le taux d'hémoglobine glyquée chez les femmes ayant un diabète gestationnel (Jovanovic-Peterson et al. 1989). D'autres travaux ont montré un effet bénéfique de l'exercice physique, soit léger chronique ou modéré aigu, sur la réduction de la glycémie de femmes présentant un diabète gestationnel (Avery and Walker 2001; Garcia-Patterson et al. 2001). A l'inverse, d'autres études n'ont pas retrouvé cette amélioration du contrôle glycémique chez des femmes enceintes diabétiques pratiquant un exercice physique modéré aigu ou chronique (Lesser et al. 1996; Avery et al. 1997). Des auteurs ont également rapporté un effet positif de l'exercice (60% VO_{2max}), combiné à une thérapie nutritionnelle adaptée en fonction de l'IMC, sur la réduction de la prise de poids de femmes obèses ayant un diabète gestationnel et sur l'incidence de la macrosomie (Artal et al. 2007).

Des effets contradictoires de l'exercice maternel durant la grossesse sur le développement et la gestion du diabète gestationnel ont donc été rapportés dans la littérature. Cela peut s'expliquer par la forte variabilité des paramètres mesurés, des critères d'inclusions et des types d'interventions et d'exercices utilisés dans ces différentes études. Ils ne permettent donc pas de tirer des conclusions précises sur un éventuel effet positif ou négatif de l'activité physique sur le métabolisme maternel et sur l'incidence et la prévalence du diabète gestationnel durant la grossesse, qu'elle soit pathologique ou non (Mottola and Artal 2016).

Chez l'animal :

Chez des rates diabétiques, un exercice modéré sur tapis roulant (20 m/min, 60 min/jour, 5 jours/semaine) avant et/ou pendant la gestation n'améliore pas la tolérance au glucose ni l'hyperglycémie (Vanheest and Rodgers 1997). Si l'exercice est pratiqué avant et pendant la gestation, la taille des portées et leur viabilité sont normales. Toutefois, l'arrêt de l'exercice pendant la grossesse chez des rates diabétiques préalablement entraînées va affecter négativement la viabilité des portées puisque tous les rats, dont la grande majorité étaient malformés, vont mourir dans les 12h suivant la mise bas. L'une des explications probables est que l'arrêt soudain de l'exercice va entraîner des perturbations de l'homéostasie glucidique et lipidique qui, couplées aux effets diabétogènes inhérents à la grossesse, pourraient affecter négativement la mère et les fœtus. La poursuite de l'exercice durant la gestation permettrait alors de maintenir un environnement davantage "contrôlé" pour le fœtus, réduisant ainsi le risque de malformations (Vanheest and Rodgers 1997). Une étude menée sur des rates obèses ayant pratiqué la course sur roue d'activité 4 semaines avant et durant toute la gestation a montré que l'exercice maternel ne modifiait pas le poids des mères. Cependant, l'exercice a permis de prévenir l'augmentation des triglycérides et de prévenir partiellement l'élévation du glucose, de l'insuline, du cholestérol et de la corticostérone plasmatiques observées chez les rates sédentaires sans effet sur la leptine et la graisse rétropéritonéale. L'exercice a également permis de prévenir la diminution de la fertilité induite par l'obésité maternelle (Vega et al. 2015).

2.8.3. Les conséquences de l'exercice maternel sur la descendance

2.8.3.1. Sur le poids corporel

Chez l'humain:

Une récente méta-analyse a montré que les femmes ayant suivi un programme d'exercice aérobie, de résistance ou combiné avant la grossesse diminuaient de 31% leur risque d'avoir un gros bébé ou un bébé macrosomique (Wiebe et al. 2015).

La pratique d'un exercice aérobie régulier durant la grossesse va avoir des effets variés sur le poids de naissance de la descendance (Hopkins and Cutfield 2011). Ceux-ci vont

principalement dépendre du type d'exercice et de son intensité. Ainsi, la pratique d'un exercice aérobie non-porté sur bicyclette (65 % VO_{2max} , maximum 5 fois 40 minutes par semaine) durant la grossesse est associé à une réduction du poids de naissance et de l'IMC chez la descendance (Hopkins et al. 2010; Hopkins and Cutfield 2011). Ces diminutions seraient dues à une réduction des concentrations en IGF1 et IGF2 dans le sang de cordon (Hopkins, Baldi et al. 2010). Un exercice aérobie régulier porté (course à pied, montée d'escaliers...) est, lui, rapporté par certains auteurs comme stimulant la croissance du placenta et associé à une plus grande taille à la naissance (Clapp and Rizk 1992; Clapp et al. 2002). Au contraire, d'autres études ont noté une réduction du poids de naissance chez la descendance de femmes ayant pratiqué un exercice vigoureux porté durant toute la grossesse (course à pied ou danse aérobie à des intensités supérieures à 50 % de celles pratiquées avant la conception). Cette différence de poids corporel persiste au moins jusqu'à l'âge de 5 ans mais sans différence de taille ni de circonférence crânienne (Clapp and Capeless 1990; Clapp 1996). D'autres études ne notent aucune modification du poids de naissance par l'exercice de la mère (Perales, Santos-Lozano et al. 2016). Une des hypothèses pour expliquer ces modifications de poids de naissance est que la pratique d'un exercice aérobie régulier influencerait le volume et/ou la masse du placenta (Jackson et al. 1995; Clapp et al. 2000; Clapp, Kim et al. 2002; Hopkins and Cutfield 2011), entraînant des fluctuations dans l'apport en substrat et en oxygène au fœtus (Clapp 2006). La croissance du placenta se fait surtout au début de la grossesse. L'exercice pratiqué durant la première moitié de la gestation augmenterait la taille du placenta et donc l'irrigation du fœtus afin de compenser les consommations d'oxygène et de substrats par la mère lors de l'exercice. Si la mère stoppe son activité en fin de grossesse, la taille du placenta reste élevée. L'irrigation et l'apport en substrats deviendront alors supérieurs aux besoins du fœtus dont la croissance sera alors augmentée. Si au contraire la femme enceinte commence l'exercice en fin de grossesse, une fois la croissance du placenta terminée, cette dernière sera alors insuffisante à pallier aux besoins du fœtus durant l'activité de la mère, pouvant entraîner une hypoxie et/ou une hypoglycémie fœtales, réduisant alors sa croissance. Ainsi, il a été montré que de gros volumes d'activité physique modérée durant les deux derniers trimestres de la grossesse réduisait le poids de naissance alors que la réduction de la quantité d'activité physique en fin de grossesse augmente le poids de naissance et le pourcentage de masse grasse (Hopkins and Cutfield 2011).

L'exercice gestationnel en résistance semble quant à lui ne pas avoir d'effet sur le poids de la descendance selon une revue ayant analysé 5 études randomisées (Perales, Santos-Lozano et al. 2016).

Certaines études portant sur la combinaison d'exercices aérobie et de résistance durant la grossesse ont montré que cette modalité d'exercice diminue le risque de macrosomie et le poids de naissance (Perales, Santos-Lozano et al. 2016). Une étude conduite chez des femmes enceintes soumises à un programme d'entraînement modéré (<70 % FCmax), combinant des exercices de résistance et aérobie (3 fois/semaine, 50/55 minutes par session) a montré une réduction de 58 % du risque de macrosomie chez les nouveau-nés de mères entraînées par rapport à ceux issus de mères sédentaires (Barakat et al. 2013). D'autres auteurs ont rapporté une diminution du poids de naissance chez la descendance de mères ayant suivi un programme d'entraînement combiné (exercices aérobie, de résistance et étirements) durant la grossesse. Celui-ci était réalisé à une intensité faible à modérée, 3 à 5 fois par semaine, durant 30 à 45 minutes par session et associé à des conseils nutritionnels. Ces résultats restent cependant largement controversés. En effet, une revue de littérature récente suggère que le niveau de preuve entre exercice maternel combiné et poids de naissance de la descendance est faible car la plupart des études randomisées ne trouvent aucun effet (Perales, Santos-Lozano et al. 2016).

Chez l'animal :

Dans une étude menée sur des souris, l'exercice volontaire pratiqué avant et pendant la gestation n'a pas d'effet sur la composition corporelle de la descendance mâle ou femelle que ce soit à l'âge de 3 ou de 9 semaines, ni sur sa propension à faire de l'exercice physique (Kelly et al. 2015). Dans une étude menée sur des rats, l'exercice volontaire pendant la gestation n'a pas d'effet sur le poids de naissance de la descendance mais est associé à un plus faible pourcentage de masse grasse à l'âge de 4 et 8 mois (Sheldon et al. 2016). Au contraire, une autre étude sur des rats a montré que la descendance de mères pratiquant un exercice volontaire avant et pendant la gestation avait un poids de naissance plus faible (Raipuria et al. 2015). Cela peut être dû au fait que dans l'étude de Sheldon et al., les rates avaient accès à la roue d'activité seulement

du 4^{ème} au 21^{ème} jour de la gestation alors que dans celle de Raipuria et al., elles y avaient accès du 10^{ème} jour avant la gestation jusqu'à la mise bas.

2.8.3.2. Sur le métabolisme

Chez l'animal :

Chez les rongeurs, l'exercice maternel volontaire sur roue d'activité améliore la tolérance au glucose et l'insulino-sensibilité de la descendance. Il entraîne également une réduction de l'insulinémie, de la glycémie et du HOMA (HOMeostasis Model Assessment of insulin resistance, défini comme étant l'insulinémie ($\mu\text{UI/mL}$)*glycémie (mg/dL)/405 chez l'homme ou insulinémie*glycémie/2430 chez le rat, marqueur de l'insulino-résistance s'il est >3). Enfin, l'exercice de la mère modifie la composition corporelle de la descendance en réduisant sa masse grasse et en augmentant sa masse maigre (Carter et al. 2012; Carter et al. 2013; Stanford et al. 2015; Vega, Reyes-Castro et al. 2015). D'autres travaux ont également montré que l'exercice maternel volontaire augmentait l'expression des ARNm de GLUT4, IL6, TNF α , et PGC1- α . dans le tissu adipeux de la descendance (Raipuria, Bahari et al. 2015). Une autre étude a été conduite chez des souris ayant subi un entraînement de nage à intensité modérée durant la gestation (60 minutes par jour avec une charge équivalent à 3 % du poids corporel attachée à la queue, excepté la dernière semaine de gestation qui était sans charge). Cet exercice maternel a entraîné une réduction du poids de la descendance de la naissance jusqu'à l'âge de 2 mois. La descendance âgée de 12 semaines a ensuite été nourrie avec un régime riche en graisses (45 % des calories provenant de lipides) durant 16 semaines. La descendance de mères ainsi entraînées soumise à un régime gras présente une moindre prise de poids et de masse grasse. Cela est peut-être le résultat d'une augmentation de la dépense calorique durant la journée chez les rats nés de mères actives. La réduction de la masse grasse chez la descendance issue de mères entraînées va être associée à une augmentation de l'expression de l'adiponectine dans le muscle (signe d'une réduction du risque de diabète de type 2), à une réduction des niveaux de leptine sanguins ainsi qu'à une amélioration de la sensibilité globale à l'insuline. Cette moindre prise de masse grasse chez les petits de mères entraînées est également accompagnée d'une diminution de l'expression d'IL6 et une augmentation des niveaux de peptides PYY, connus pour donner une sensation de satiété (Wasinski et al. 2015).

Dans une étude menée chez des rats, les mères ont pratiqué un exercice volontaire sur roue d'activité durant la gestation. La descendance a été soumise à un régime riche en graisses (45 % de lipides) du sevrage jusqu'à l'âge de 4 mois ou 8 mois. L'entraînement de la mère est associé à une réduction du pourcentage de masse grasse de la descendance à tous les âges. L'exercice maternel est également associé à une augmentation des marqueurs hépatiques de biogénèse mitochondriale (PGC-1 α et TFAM) et de la sécrétion de triglycérides hépatiques (MTTP). Tout cela suggère que l'entraînement de la mère pourrait protéger la descendance adulte contre la stéatose hépatique induite par la consommation du régime gras (Sheldon, Nicole Blaize et al. 2016).

L'exercice de la femelle saine durant la gestation a donc un effet positif sur le métabolisme de la descendance et a un effet protecteur sur le développement de l'obésité et de la stéatose hépatique chez la descendance. Toutefois, la majorité des études qui se sont intéressées à l'impact de l'exercice maternel sur la santé métabolique de la descendance l'ont fait sur des modèles animaux pathologiques, comme l'obésité ou le diabète maternel.

Chez les rongeurs, l'exercice maternel volontaire avant et pendant la gestation protège la descendance des effets délétères du régime gras High-Fat de la mère. En effet, la descendance adulte de mères actives High-Fat a une meilleure tolérance au glucose, une insulino-résistance réduite et un pourcentage de masse grasse plus faible que les animaux issus de mères High-Fat sédentaires durant la gestation. De plus, l'insulinémie, la glycémie et la cholestérolémie sont normales malgré le régime High-Fat, alors que ce n'est pas le cas chez la descendance issue de mères High-Fat sédentaires. L'exercice des mères obèses normalise également la réduction des ARNm de MYOD1 (un facteur myogénique) et de GLUT4 observée chez les petits de mères sédentaires. L'exercice maternel réduit donc le risque métabolique de la descendance de mères obèses et améliore le métabolisme du glucose et de l'insuline de la descendance (Raipuria, Bahari et al. 2015; Stanford, Lee et al. 2015). L'exercice de la mère nourrie avec un régime High-Fat prévient aussi l'hyperméthylation de PGC1- α , associée à l'apparition de désordres métaboliques, chez la descendance et retrouvée chez les rats nés de mères sédentaires HF (Laker et al. 2014). L'exercice volontaire de rates obèses avant et pendant la gestation diminue la corticostérone plasmatique de la descendance mais de manière moins marquée que chez la descendance issue de mères non obèses. L'exercice

maternel prévient également l'augmentation de la leptinémie et partiellement celle des triglycérides chez la descendance mâle née de mères obèses (Vega, Reyes-Castro et al. 2015).

Chez des rates diabétiques, un exercice modéré sur tapis roulant (20 m.min⁻¹, pente à 0 %, 60 min/jour, 5 jours/semaine) pratiqué avant et pendant la gestation améliore la tolérance au glucose, réduit la glycémie basale et augmente l'insulinémie basale de la descendance au sevrage par rapport à la descendance issue de mères sédentaires (Vanheest and Rodgers 1997). Les poids du cœur et du muscle gastrocnémien rouge sont également augmentés chez les petits issus de mères entraînés par rapport à ceux nés de mères sédentaires (Vanheest and Rodgers 1997).

Ainsi, l'exercice maternel durant la gestation pathologique semble donc avoir des effets positifs sur le métabolisme de la descendance à plus ou moins long terme. L'entraînement gestationnel protégerait la descendance des effets délétères associés à l'obésité et au diabète de la mère.

2.8.3.3. Sur la fonction cardio-vasculaire

Chez l'humain :

Le fœtus va mettre en place des adaptations en réponse à l'exercice aérobie de la mère, notamment en modulant son rythme cardiaque. Ainsi, une étude a montré que la pratique d'au moins 30 minutes d'exercice aérobie 3 fois par semaine durant la gestation était associée à une diminution de la fréquence cardiaque (FC) et à une augmentation de la variabilité de la fréquence cardiaque (un indicateur de la capacité d'adaptation du cœur aux sollicitations) mesurées par magnéto-cardiogramme chez le fœtus à l'âge de 36 semaines. Cela est peut-être le résultat d'une modification du système nerveux autonome. Cependant, cette diminution de la FC du fœtus n'est probablement pas liée à une hypoxie fœtale qui pourrait être induite par la redistribution du flux sanguin lors de l'exercice maternel. En effet, l'hypoxie fœtale diminue la variabilité de la FC, or c'est le contraire dans cette étude (May et al. 2010). Par ailleurs, il existe une corrélation négative entre l'intensité de l'exercice maternel et la FC du fœtus et une association positive entre la durée de l'exercice de la mère et la variabilité de la fréquence cardiaque du fœtus (May et al. 2012) Il existe donc une relation dose-réponse entre les

caractéristiques de l'exercice maternel (aérobie ou en force) et les adaptations cardiovasculaires du fœtus (Mottola and Artal 2016).

Peu de travaux se sont intéressés à l'exercice de haute intensité durant la grossesse. De plus, les conclusions de ces études apparaissent comme contradictoires. Ainsi, une étude a évalué le bien-être du fœtus grâce à 4 tests classiquement utilisés : le doppler ombilical artériel, l'électrocardiogramme, la mesure de la FC et le profile biophysique fœtal. Les résultats montrent que la pratique d'un exercice vigoureux (60-84 % de la fréquence cardiaque de réserve) était bien toléré par la femme enceinte, qu'elle soit active ou inactive, et par son fœtus (Szymanski and Satin 2012). Cependant, une autre étude a montré que l'exercice de haute intensité (>90 % de la FC maximale) pouvait compromettre le bien-être du fœtus. En effet, la pratique d'un exercice de course sur tapis par des sportives de haut-niveau durant le deuxième trimestre de grossesse est associé à une bradycardie du fœtus, à un indice de pulsatilité de l'artère ombilicale élevé ainsi qu'à un flux sanguin dans l'artère utérine inférieur à 50 % de la valeur initiale de repos (Salvesen et al. 2012).

Chez l'animal :

Chez le porc, 15 semaines d'entraînement maternel sur tapis durant la gestation sont associées à une augmentation de la relaxation dépendante de l'endothélium dans l'aorte thoracique de la descendance. Cela suggère que l'entraînement maternel pourrait améliorer la réponse vasodilatatrice de la descendance à la naissance (Newcomer et al. 2012; Bahls et al. 2014). Cette amélioration de la fonction vasculaire pourrait être liée à l'augmentation de la fréquence cardiaque et du flux sanguin dans l'aorte thoracique du fœtus lors de l'exercice maternel qui pourraient augmenter la disponibilité en acide nitrique (Laughlin et al. 2008). Une étude a utilisé le même protocole d'entraînement maternel chez le porc afin d'évaluer ses effets sur la fonction vasculaire de l'artère fémorale de la descendance âgée de 3, 5 et 9 mois. Elle a montré que l'entraînement de la mère altérait la fonction vasculaire indépendante de l'endothélium de la descendance, probablement due à une différence de l'expression de gènes et de protéines associées au tonus vasculaire (MYPT1 et CPI-17). Toutefois, les différences de fonction des muscles lisses des vaisseaux sanguins entre les petits de mères entraînées et ceux de mères sédentaires diminue avec l'avancée en âge (Bahls, Sheldon et al. 2014). Ces effets de

l'exercice maternel sur la fonction vasculaire de la descendance ne sont pas retrouvés lorsque les petits sont nourris avec un régime High-Fat, que ce soit à l'âge de 4 ou 8 mois (Blaize et al. 2015). Chez le rongeur, l'exercice maternel volontaire sur roue d'activité n'est pas associé à une modification des capacités de relaxation dépendante et indépendante de l'endothélium de la descendance âgée de 4 et 8 mois (Blaize et al. 2015).

2.8.3.4. Sur la fonction cognitive

Les effets de l'exercice maternel sur la fonction cognitive de la descendance ont également été étudiés. Parmi les quelques études de la littérature, il a été montré que, chez l'humain, la pratique d'un exercice physique durant la gestation améliorerait les compétences motrices de la descendance âgée de 1 an (Clapp et al. 1998) ainsi que son intelligence générale et ses compétences langagières à l'âge de 5 ans (Clapp 1996). Chez l'animal, l'exercice maternel serait associé à des améliorations de l'apprentissage spatial et de la mémoire, attestées par une réduction du temps mis pour trouver une plateforme lors du test de Morris et par une réduction du temps d'atteinte de la cible et du nombre d'erreurs lors du test du labyrinthe en T (Parnpiansil et al. 2003; Akhavan et al. 2008; Dayi et al. 2012). Ces effets de l'exercice maternel sur la fonction cognitive s'accompagnent d'une augmentation des ARNm du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) (Parnpiansil, Jutapakdeegul et al. 2003) et de la neurogenèse (Dayi, Agilkaya et al. 2012). De plus, l'exercice maternel est associé à une augmentation de l'expression du récepteur à la leptine dans l'hippocampe, ce qui améliorerait l'action de celle-ci dans la régulation de la plasticité neuronale hippocampique (Dayi, Agilkaya et al. 2012). L'exercice maternel va également avoir des conséquences à long terme sur la fonction cognitive de la descendance. Ainsi, la descendance adulte de mères entraînées a une meilleure mémoire de la reconnaissance d'objets comparée à celle issue de mères sédentaires, accompagnée d'une augmentation de l'expression de c-FOS, considéré comme un marqueur de l'activation neurale (Robinson and Bucci 2014). Il semble donc que l'exercice maternel durant la gestation aurait un effet bénéfique sur la fonction cognitive de la descendance à court terme mais également à long terme.

3. Environnement de la mère et qualité du lait maternel

3.1. Chez l'humain

Des auteurs ont montré que l'IMC de la mère avant la grossesse est corrélé positivement à la concentration en leptine dans le lait maternel. Or, plus la quantité de leptine dans le lait est importante, plus le z-score d'IMC de l'enfant est petit (z-score d'IMC = différence entre l'IMC individuel et la médiane de la population de référence pour l'âge et le sexe divisée par l'écart type de la population de référence pour l'âge et le sexe). Le glucose dans le lait est, lui, associé positivement au poids relatif (z score), à la masse grasse et à la masse maigre de l'enfant âgé de 1 mois. Des concentrations élevées en insuline dans le lait sont quant à elles associées à une diminution du poids de l'enfant, de son poids relatif et de sa masse maigre. Une augmentation de la quantité d'IL6 dans le lait est associée à une diminution du poids relatif (z-score poids/taille), de la prise de poids, du pourcentage de masse grasse et de la masse grasse absolue de l'enfant alors qu'une augmentation de la quantité de TNF- α est liée à une réduction de sa masse maigre. La composition du lait maternel va donc être sensible à des hormones et à des facteurs inflammatoires associés à l'appétit, la croissance et l'obésité (Fields and Demerath 2012). Dans l'étude DARLING (Davis Area Research on Lactation, Infant Nutrition and Growth), il a été montré que l'augmentation du pourcentage du poids idéal de la mère était associée à une augmentation de la concentration en lipides et en protéines dans le lait maternel. De plus, les auteurs ont rapporté une association positive entre la consommation de protéines par la mère et la concentration lipidique et le contenu énergétique dans son lait. La concentration en lipides du lait est également augmentée chez les primipares. La composition en nutriments du lait maternel va donc être sensible à certains facteurs comme la composition corporelle de la mère, sa nutrition ou encore le nombre d'enfants qu'elle a déjà eu (Nommsen et al. 1991). Par ailleurs, la composition du lait va être plus sensible à ces facteurs en fin de lactation plutôt que dans les premiers mois de celle-ci. Cela est probablement dû à la diminution de la quantité de prolactine en fin de lactation, celle-ci jouant un rôle dans l'acheminement des nutriments jusqu'à la glande mammaire et stimulant la synthèse protéique durant la lactation (Nommsen, Lovelady et al. 1991). Les facteurs psychologiques maternels vont également influencer la lactation. En effet, la dépression

post-partum est associée à une réduction de l'allaitement. Or, ce dernier est un critère de protection contre le développement de l'obésité de l'enfant. La dépression post-partum est également associée à des comportements délétères pour la santé comme une surnutrition ou une faible activité physique de la mère et qui pourront être transmis à l'enfant (Capra, Tezza et al. 2013).

Beaucoup de travaux se sont intéressés à la composition en AG du lait maternel. Une étude a été menée sur des Indiennes, Malaisiennes et Chinoises allaitantes et vivant à Singapour. L'analyse de leur lait a montré des variations dans la quantité d'acides gras acide eicosatétraénoïque (ETA) et DHA du lait, sans pour autant qu'il y ait de différences dans la quantité en oméga 3 et 6 dans leur nourriture. Ainsi, la quantité d'ETA est augmentée chez les Indiennes alors qu'elle est faible chez les Malaisiennes. La quantité de DHA dans le lait maternel est quant à elle augmentée chez les chinoises par rapport aux Malaisiennes et aux Indiennes. Ainsi, l'origine ethnique et donc la génétique vont avoir une influence sur la composition du lait maternel en acides gras et ce, indépendamment de l'environnement de vie et de la consommation de lipides de la mère (Su et al. 2010). Même si les facteurs génétiques de la mère vont contribuer aux variations de la composition du lait en acides gras, leur effet est négligeable par rapport à la nutrition de la mère (Innis 2014). Les AG insaturés dans le lait maternel, comme l'acide linoléique ou le DHA, reflètent l'ingestion d'acides gras par la mère. Toutefois, on ne sait pas si leur quantité et leur qualité est régulée par la glande mammaire pour coller aux besoins de l'enfant en acides gras (Innis 2014). La composition en acides gras dans le lait maternel a été modifiée ces dernières années avec la modification des apports et des pratiques alimentaires des sociétés modernes. Ainsi, l'utilisation croissante d'huiles végétales raffinées et d'aliments transformés et préparés (Wolmarans 2009) a modifié la composition en acides gras du lait maternel (Innis 2011). Des études ont en effet montré que le lait de Boliviennes, dont seulement 2 % de l'apport calorique provient d'aliments transformés, contient 50 % de moins d'acide linoléique et plus de 3 fois plus de DHA que le lait d'américaines qui mangent davantage de produits transformés et ont une alimentation plus grasse (Martin et al. 2012). Il est possible que la modification de la qualité des acides gras dans le lait maternel ces dernières années ne permette pas un développement neurologique optimal de l'enfant (Innis 2011; Innis 2014). La quantité de DHA dans le cerveau d'enfants nourris avec du lait en poudre non supplémenté est inférieure à celle des enfants nourris au lait maternel (Makrides et al.

1994; Farquharson et al. 1995). Les effets de la consommation maternelle en DHA et leur quantité dans le lait maternel sur le développement de l'enfant sont variables et contradictoires dans la littérature même si la qualité des acides gras dans le lait maternel a été prouvée comme ayant un effet sur le développement neurologique de l'enfant (Innis 2014). La complémentation en oméga 3 n'aurait cependant pas le même impact sur la qualité du lait et l'enfant qu'une alimentation maternelle riche en poissons et produits de la mer (Innis 2014). Une étude sur des chinoises vivant dans des régions différentes a montré que la composition en acides gras dans le lait maternel variait en fonction de la région d'origine (rurale, urbaines, pastorale, marine). La concentration en DHA dans le lait maternel était plus élevée chez les femmes résidant près de la mer (2,78 % de acides gras du lait vs. 0,44 à 0,88 %), avec des quantités similaires à celles retrouvées dans le lait de femmes consommant de l'huile de poisson (Harris et al. 1984). La consommation de produits de la mer chez ces femmes habitant dans des régions proches de la mer pourrait donc contribuer à cette concentration en DHA élevée dans le lait maternel. Le lieu d'habitation et les habitudes alimentaires des régions ou des pays de résidence peuvent donc influencer sur la composition du lait (Ruan et al. 1995). Par ailleurs, la consommation de margarine riche en huiles végétales partiellement hydrogénées chez la mère allaitante mince va quant à elle diminuer la quantité de gras dans le lait par rapport à des femmes consommant de la margarine pauvre en acides gras trans. Cet effet n'est pas retrouvé chez des mères obèses (Anderson et al. 2005).

3.2. Chez l'animal

Des études expérimentales ont également exploré le lien entre nutrition maternelle et composition du lait. Une étude a été menée chez des souris nourries avec un régime standard, carencé en protéines (9 %) ou carencé en protéines et complémenté en DHA et acide arachidonique (ARA) durant la gestation et la lactation. A la naissance, les petits de mères complémentées en AG sont ceux qui présentent les niveaux d'acides gras oméga 3 et de DHA dans le cerveau les plus élevés. Les petits issus de mères carencées en protéines sont ceux qui ont le plus d'AG mono-insaturés et le moins de DHA et d'AG oméga 3 poly-insaturés dans le cerveau. Durant la lactation, la descendance issue de mères complémentées a plus d'acide α -linoléinique, d'EPA et de DHA dans le cerveau que celle née de mères carencées en protéines. Le lait des mères complémentées en AG

est celui qui contient le plus de DHA et d'ARA au début de la lactation. Un régime maternel pauvre en protéines peut donc affecter négativement le développement du cerveau de la descendance en raison de la carence en oméga 3 dans le lait maternel qui peut altérer l'accumulation de DHA dans le cerveau des petits. La complémentation en DHA et en ARA de la mère soumise à un régime pauvre en protéines va modifier positivement la composition du lait maternel et la composition en AG du cerveau des petits, pouvant potentiellement entraîner une amélioration des capacités cognitives de la descendance (Ranade and Rao 2013). Dans une étude conduite sur des rats, la consommation d'un régime enrichi en gras (30 % vs. 5 % de lipides) durant la gestation et la lactation augmente les concentrations en ghréline et en obéstatine dans le lait maternel, pouvant potentiellement modifier les sensations de satiété et de faim de la descendance (Slupecka et al. 2016). Chez des souris nourries avec un régime riche en gras et en sucres (30 % de glucides, 45 % de lipides), le rendement énergétique du lait maternel est augmenté. Cela va entraîner une augmentation de la croissance des petits. Cette augmentation de la croissance de la descendance est majorée chez des souris génétiquement sélectionnées pour leur propension à faire de l'activité physique (Guidotti et al. 2013).

Des travaux se sont également intéressés aux variations de la composition du lait de la mère en réponse à son activité physique. Dans une étude conduite chez des rates pratiquant la nage pendant la gestation et la lactation (2h par jour avec un poids de 3 % du poids corporel à la queue), il a été montré que la prise alimentaire des rates entraînées était plus importante durant la lactation par rapport à celle des rates sédentaires. Toutefois, les poids corporels des rates étaient similaires dans les deux groupes, probablement en raison d'une dépense énergétique plus élevée chez les animaux entraînés. La production de lait, son contenu énergétique et ses concentrations en graisses et protéines ne variaient pas entre les groupes mais la concentration en lactose était réduite dans le lait des rates entraînées. Cela n'avait pas d'effet sur le poids corporel des ratons âgés de 15 jours (Treadway and Lederman 1986). Une autre étude a été conduite chez des rates pratiquant un exercice modéré sur tapis roulant pendant la lactation. Les mères étaient nourries avec des régimes contenant des niveaux variés de glucose (60, 40, 20 %) et de lipides (14, 22, 30 %, respectivement). La concentration en protéines dans le lait était augmentée chez les rates entraînées nourries avec un régime composé à 40% de glucose. L'exercice maternel était également associé à une

diminution de la concentration en lactose dans le lait des mères nourries avec un régime le plus faible en glucose (20 %). Durant l'exercice maternel, la disponibilité du glucose pour la synthèse du lactose dans la glande mammaire est réduite car du glucose est consommé par la mère pour l'exercice. La faible consommation de glucose dans l'alimentation, associée à une augmentation de son utilisation lors de l'exercice, va probablement entraîner une réduction des quantités de lactose produites dans la glande mammaire. Cela pourrait expliquer les diminutions de concentrations en lactose dans le lait des rates entraînés consommant le régime faible en glucose. L'exercice maternel et le régime contenant 60% de glucose augmentent les concentrations en lipides totaux dans le lait. Cela est probablement dû à une augmentation de la mobilisation des graisses de la glande mammaire, dont le contenu est diminué chez les animaux entraînés. La qualité de la production de lait est associée à l'augmentation du poids des rats. A l'âge de 15 jours, les rats issus de mères nourries avec un régime contenant des quantités modérées de glucides (40% glucose) et de gras (22%) étaient plus lourds que ceux nés de mères nourries avec un régime riche en glucides (60% glucose) et faible en gras (14% lipides). Cela suggère que la production de lait peut être modifiée par la répartition en macronutriments dans l'alimentation de la mère. (Matsuno et al. 1999).

Ainsi, des facteurs génétiques mais surtout environnementaux, comme la nutrition maternelle ou son activité physique, vont avoir une influence sur la composition en nutriments du lait maternel. Ces modifications de la qualité du lait pourront avoir une influence sur le développement de la descendance nourrie avec ce lait et potentiellement influencer sa santé future.

OBJECTIFS SCIENTIFIQUES

La prévalence des maladies métaboliques est en constante augmentation à un niveau que l'on peut même qualifier "d'épidémique", particulièrement dans les sociétés occidentales. La prise en charge et le traitement de ces pathologies représentent un coût financier très important pour les pays concernés mais également un coût humain lié à l'augmentation de la mortalité associée à ces maladies. Les causes de ces dysfonctions métaboliques sont multiples. La génétique et l'hérédité familiale en sont une, tout comme l'environnement et les habitudes de vie de l'individu. Ainsi, des facteurs tels que la nutrition et l'exercice physique vont jouer un rôle non négligeable, en modulant positivement ou négativement l'homéostasie énergétique. Dans ce contexte, de nombreux travaux se sont intéressés au pancréas et à l'insuline mais aussi à l'action de celle-ci sur ses tissus cibles afin de mieux comprendre les mécanismes potentiellement impliqués dans le développement de pathologies telles que le diabète de type 2. Parallèlement à tous les travaux portant sur les effets de la nutrition et de l'exercice chez l'adulte, des études épidémiologiques récentes ont suggéré que l'environnement lors des premières phases de la vie de l'individu avait également un rôle non négligeable dans la survenue de pathologies telles que le diabète de type 2, l'obésité, l'hypertension, les maladies cardio-vasculaires ou le syndrome métabolique. Ces études ont abouti à la définition du concept scientifique des DOHaD. A ce jour, de nombreuses études ont été effectuées dans ce domaine et il est maintenant clairement établi que des facteurs tels que la nutrition, l'obésité, le diabète, le stress, la chaleur ou encore l'activité physique de la mère lors de la grossesse et/ou l'allaitement vont jouer un rôle dans la survenue de diverses pathologies chez la descendance. Toutefois, de nombreuses questions restent en suspens. Si les conséquences à long terme de la nutrition maternelle sur la descendance ont été largement étudiées, les études portant sur l'exercice physique périnatal se sont surtout intéressées à ses conséquences sur la mère et le fœtus ou le nouveau-né. Or, les maladies métaboliques apparaissent en général à l'âge adulte et rarement dans les premières phases de la vie de l'individu.

L'objectif de cette thèse était donc d'étudier les conséquences de l'exercice physique maternel périnatal sur la santé future de la descendance, en portant une attention particulière à sa composition corporelle, sa fonction pancréatique et à l'homéostasie glucidique et lipidique, à court terme mais également à plus long terme, à l'âge adulte.

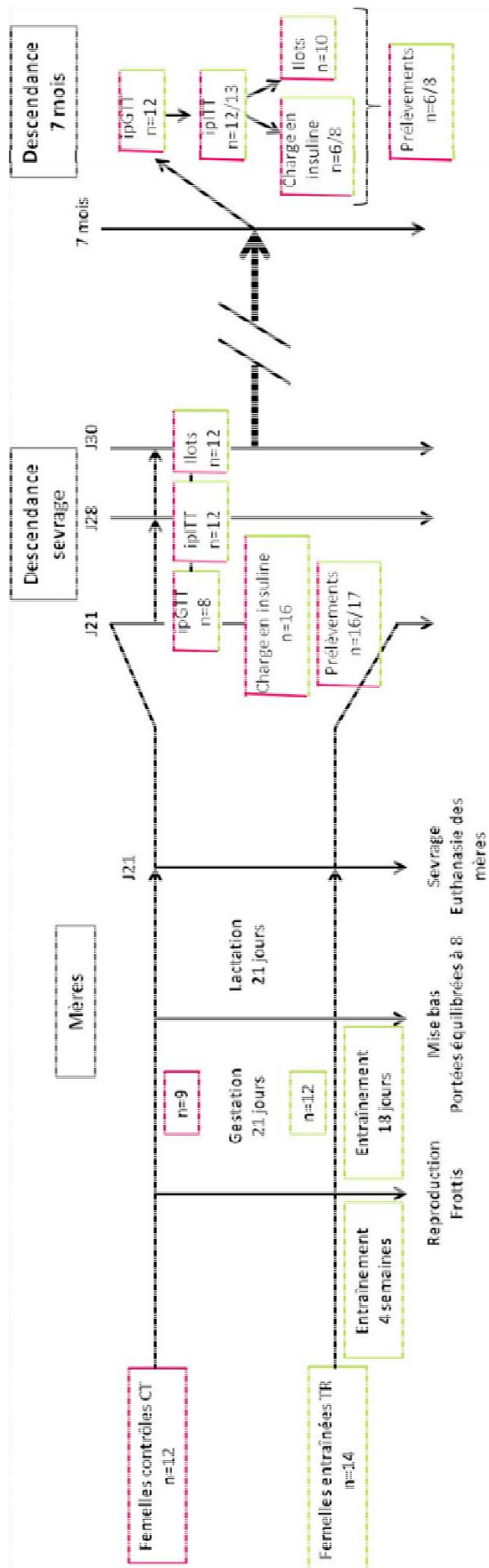
Pour cela, ce travail de thèse est articulé en trois temps.

Dans un premier temps, nous avons cherché à caractériser les effets de l'exercice physique sous-maximal de la mère avant et pendant la gestation sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance. Celle-ci a été étudiée au sevrage afin de déterminer les conséquences précoces de l'entraînement maternel mais également à l'âge adulte selon le chronogramme 1 ci-dessous. Pour cela, de nombreuses mesures ont été effectuées afin d'évaluer la structure et la fonction du pancréas ainsi que la gestion des substrats à un niveau physiologique mais également au niveau cellulaire et moléculaire. En effet, dans la littérature, très peu d'études ont porté sur l'impact de l'exercice gestationnel sur le métabolisme de la descendance, notamment à long terme et aucune n'a exploré la fonction pancréatique.

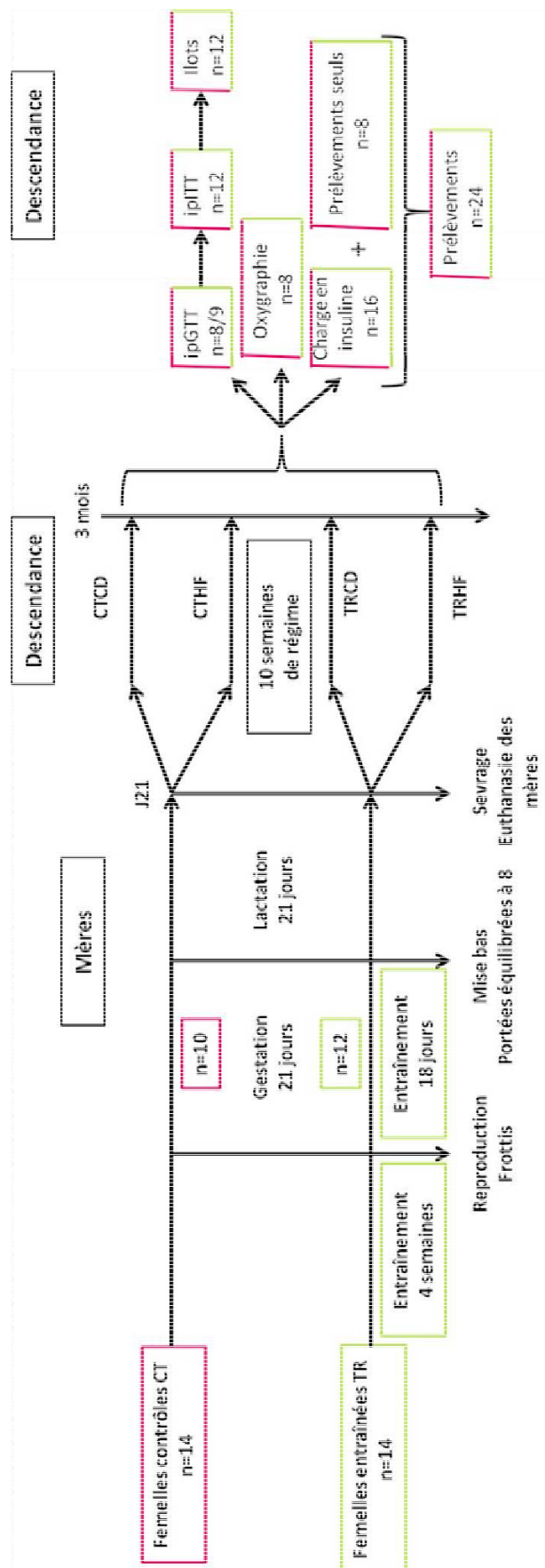
Nous avons ensuite voulu voir les conséquences de ce même exercice maternel sur la descendance lorsque celle-ci se développe dans un contexte nutritionnel déséquilibré selon le chronogramme 2 ci-dessous. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à sa composition corporelle, sa fonction pancréatique et sa gestion des substrats, en réalisant des mesures à différents niveaux de l'organisme (global, cellulaire et moléculaire). En effet, les modes de consommation actuels conduisent les individus à avoir une alimentation de plus en plus déséquilibrée, avec des conséquences néfastes sur la santé via le développement de pathologies métaboliques. Or, des études ont montré que les conséquences de l'environnement gestationnel sur la descendance allaient également dépendre de l'environnement nutritionnel de celle-ci. Les travaux s'étant intéressés aux conséquences de l'exercice physique de la mère sur la descendance soumise à une alimentation déséquilibrée sont extrêmement rares. Ils ont pour la plupart étudié la composition corporelle de la descendance mais aucun ne s'est intéressé à sa fonction pancréatique et à l'homéostasie énergétique.

Enfin, nous nous sommes intéressés aux conséquences de l'entraînement physique maternel lors de la lactation sur la descendance à court et à long terme selon le chronogramme 3 ci-dessous. Pour cela, nous avons étudié les mêmes paramètres que dans les points précédents. En effet, la littérature révèle que la nutrition de la mère mais également son exercice physique vont modifier la composition en nutriments du lait maternel. Toutefois, très peu de travaux ont étudié les conséquences de la modification du lait maternel sur la santé future de l'enfant.

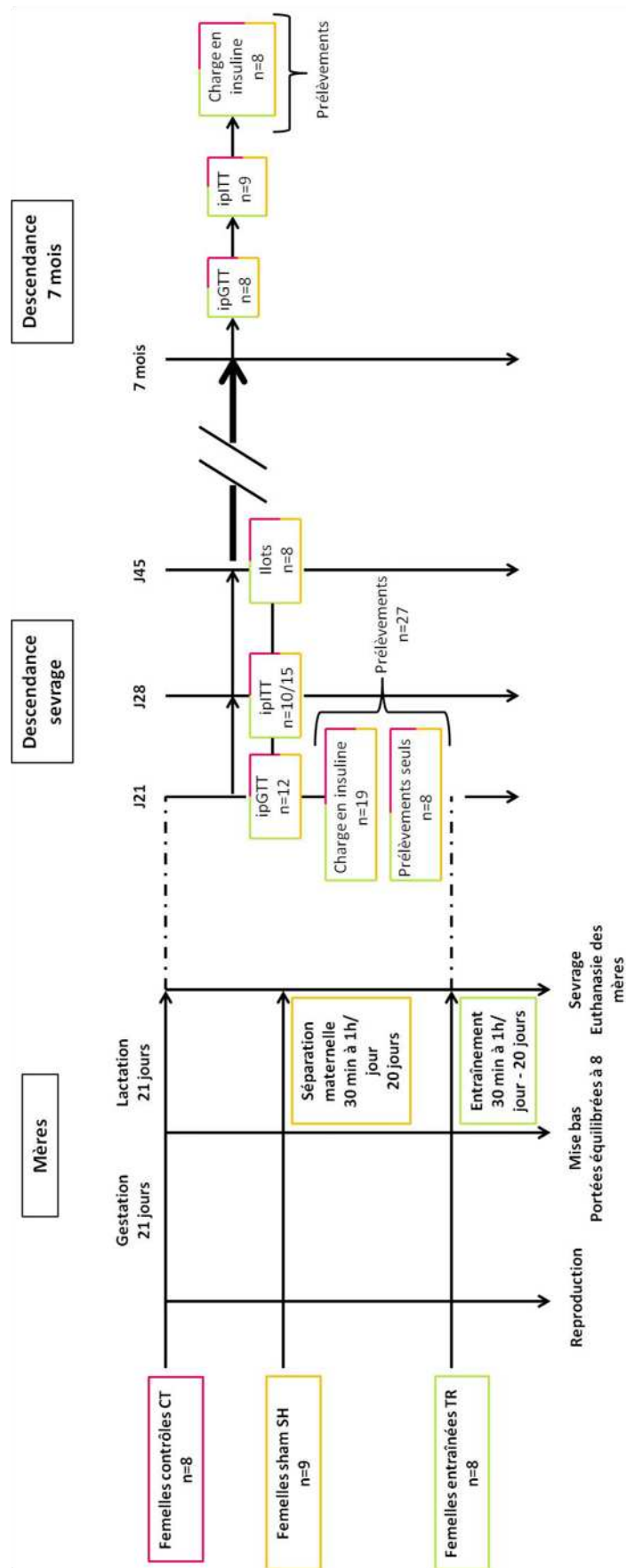
Chronogramme 1 :



Chronogramme 2 :



Chronogramme 3 :



MATERIELS ET METHODES

Toutes les procédures expérimentales ont été menées en accord avec les directives 2010/63/UE et 2013-118. Toutes les expérimentations ont été autorisées par le Ministère de la Recherche français (autorisations n°00174.01 et 00174.02) après examen par le comité d'éthique de Grenoble (ComEth n°12).

1. Animaux

Les travaux ont été réalisés sur des rats de souche Wistar (Charles River Laboratories, Saint Germain-Nuelles, France). Ils étaient élevés dans une animalerie à environnement contrôlé (cycle alterné lumière/obscurité 12h/12h, température maintenue à $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). Les animaux avaient un accès à l'eau de boisson et à la nourriture (voir paragraphe 2.3.) à volonté et étaient 2 par cage. Les femelles et la descendance mâle jusqu'à l'âge de 3 mois étaient pesées et la consommation moyenne de nourriture mesurée de manière hebdomadaire.

2. Conditionnement

2.1. Protocole d'entraînement dans les études 1 et 2

Après une semaine d'acclimatation à l'animalerie, des femelles nullipares âgées de 14 à 17 semaines ont été réparties de manière aléatoire soit dans un groupe contrôle sédentaire (CT), soit dans un groupe entraîné (TR). L'entraînement consistait en la réalisation d'efforts en endurance sur tapis roulant motorisé (Bioseb, Vitrolles, France). Il a débuté 26 jours avant la gestation, à raison de 5 entraînements par semaine, et s'est poursuivi durant les 18 premiers jours de la gestation, sans jour de repos. La pente du tapis était réglée à 10%. La vitesse du tapis et la durée de l'entraînement ont été progressivement augmentées durant les 3 premières semaines pour atteindre une vitesse de 25 m/min (correspondant à environ 55 % de la Vitesse Maximale Aérobie (VMA)) durant 1h (Tableau 4).

Tableau 4. Paramètres de vitesse du tapis et de durée de l'entraînement des femelles entraînées des études 1 et 2.

Jour	Vitesse et durée	Jour	Vitesse et durée
J-46	20 m/min 25 min	J-32	25 m/min 40 min
J-45	20 m/min 30 min	J-31	25 m/min 45 min
J-44	20 m/min 35 min	J-30	25 m/min 50 min
J-43	20 m/min 40 min	J-29	25 m/min 55 min
J-42	20 m/min 45 min	J-28	25 m/min 60 min
J-41	Repos	J-27	Repos
J-40	Repos	J-26	Repos
J-39	22 m/min 35 min	J-25-J-22	25 m/min 60 min
J-38	25 m/min 25 min	J-21	25 m/min 60 min
J-37	25 m/min 30 min		Début gestation
J-36	25 m/min 35 min	J-20J-J-2	25 m/min 60 min
J-35	25 m/min 40 min	J-2-J0	Repos
J-34	Repos	J0	Mise bas
J-33	Repos		

2.2. Protocole d'entraînement dans l'étude 3

Après une semaine d'acclimatation à l'animalerie, des femelles nullipares âgées de 14 à 17 semaines ont été réparties de manière aléatoire soit dans un groupe contrôle sédentaire (CT), soit dans un groupe entraîné (TR), soit dans un groupe sham de séparation maternelle (SH). Durant les 3 jours précédant l'accouplement, les rates du groupe TR ont été placées sur un tapis roulant motorisé (Bioseb, Vitrolles, France) afin de se familiariser avec l'appareil (30 min à 15 m/min le premier jour, 30 min à 20 m/min le deuxième et 40 min à 20 m/min le troisième). Deux jours après la mise bas et jusqu'à la fin de la lactation, les rates du groupe TR ont été entraînées en endurance tous les jours sur le tapis roulant. La pente du tapis était réglée à 10%. La vitesse du tapis et la durée de l'entraînement ont été augmentées durant la première semaine pour atteindre 25 m/min durant 1h (Tableau 5).

Tableau 5. Paramètres de vitesse du tapis et de durée de l'entraînement des femelles entraînées dans l'étude 3.

Jour	Vitesse et durée
J0	Mise bas
J0-J1	Repos
J2	20 m/min 30 min
J3	20 m/min 40 min
J4	22 m/min 40 min
J5	25 m/min 35 min
J6	25 m/min 45 min
J7	25 m/min 50 min
J8	25 m/min 55 min
J9-J21	25 m/min 60 min

2.3. Alimentation

Dans les 3 études, les femelles ont été nourries *ad libitum* avec un régime contrôle standard de type entretien (A04, SAFE Diets, Augy, France) (Tableau 6, Annexes) avant la gestation et avec un régime contrôle standard de type élevage (A03 SAFE Diets, Augy, France) (Tableau 6, Annexes) durant la gestation et la lactation. Les mâles ont été nourris avec un régime contrôle standard de type entretien (A04, SAFE Diets, Augy, France).

Dans les études 1 et 3, les ratons ont été nourris *ad libitum* avec un régime contrôle standard de type élevage (A03 SAFE Diets, Augy, France) du sevrage jusqu'à l'âge de 8 semaines puis avec un régime contrôle standard de type entretien (A04, SAFE Diets, Augy, France).

Dans l'étude 2, la descendance mâle des groupes CT et TR a été séparée en deux groupes. Les ratons ont été nourris *ad libitum* durant 10 semaines à partir du sevrage soit avec un régime contrôle (CD) standard de type élevage (A03 SAFE Diets, Augy, France), soit avec un régime enrichi en gras et en sucre (HF) (INRA, France, à partir de Harlan TD.99249) (Tableau 6, Annexes).

Tableau 6. Composition nutritionnelle des régimes alimentaires

Régime	A03	A04	HF
Kcal/g	3,4	3,4	5,5
% protéines	25,2	19,3	20
% lipides	13,5	8,4	36,1 dont matière grasse du lait 33
% glucides	61,3	72,4	35,1 dont sucrose 16,6

3. Reproduction et détermination de la gestation (Etudes 1 et 2)

La reproduction s'est faite dans des cages adaptées, d'une surface supérieure à celle des cages classiques. Durant 1 semaine, les femelles ont été placées avec des mâles âgés de 15 à 18 semaines en vue d'être fécondées. Des frottis vaginaux ont été effectués tous les jours afin de détecter la présence de spermatozoïdes, car la présence d'un bouchon muqueux est difficile à détecter chez le rat. Pour cela, un coton tige imbibé de sérum physiologique a été inséré dans le vagin de la rate. Le prélèvement a ensuite été déposé sur une lame en verre pour être observé au microscope. La présence de spermatozoïdes (Figure 12), signe probable de fécondation, a été considérée comme le début de la gestation et a été rapidement confirmée par une prise de poids très importante dans les jours suivants.

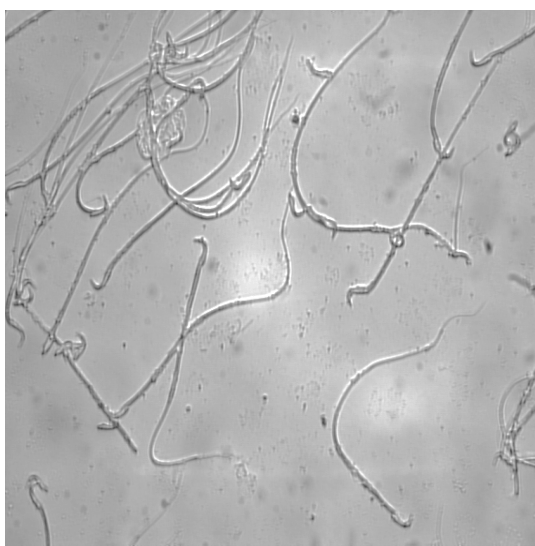


Figure 12. Spermatozoïdes de rat

La durée de la gestation est de 21 jours chez le rat. Deux jours après la naissance, les portées ont été égalisées à 8 animaux par mère afin de limiter tout biais lié à la taille de la portée. Un maximum de mâles a été conservé, en croisant éventuellement des portées du même groupe expérimental nées le même jour. Seule la descendance mâle a été utilisée pour les expériences afin de s'affranchir de l'influence des variations hormonales sur les résultats obtenus.

4. Traite (Etude 3)

Dans l'étude 3, du lait maternel a été collecté chez les femelles, 2 jours et 20 jours après la mise bas. Afin de pouvoir récolter une quantité suffisante de lait et favoriser son accumulation dans la glande mammaire, il faut empêcher les ratons de téter. Par ailleurs, l'accumulation de lait dans les glandes mammaires est augmentée lorsque les stimuli sensoriels sont maintenus entre la mère et les petits (Muranishi et al. 2016). Les ratons ont donc été séparés des mères durant 5 à 6 heures, tout en restant dans la même cage pour maintenir un contact visuel, auditif et olfactif avec la mère. Les ratons âgés de 2 jours ont été placés sur des compresses dans une boîte en métal à couvercle grillagé dans la cage de la mère. Une lampe chauffante était placée au-dessus de la cage afin d'éviter le refroidissement des petits éloignés de leur mère durant cette période. Afin d'éviter un dessèchement de la peau qui aurait pu être causé par la chaleur de la lampe, les ratons ont été mouillés avec du sérum physiologique. A l'âge de 20 jours, les ratons ont été séparés des mères à l'aide d'une grille en métal ajourée permettant de diviser la cage en 2 parties.

Après la période de séparation, le contact physique entre les ratons et les mères a été rétabli durant une dizaine de minutes. Les mères ont alors immédiatement manifesté des comportements maternels envers leurs petits tels que le léchage ou l'allaitement. Ces comportements sont décrits comme stimulant la sécrétion naturelle d'ocytocine (Ramos et al. 2008), ce qui a conduit à une augmentation de la sécrétion de lait maternel. Après s'être assuré que les petits avaient commencé à téter, les mères ont été retirées de la cage. Elles ont ensuite été anesthésiées par inhalation de gaz isoflurane dans une chambre d'induction. L'anesthésie a été maintenue grâce à un masque placé sur le museau et distribuant de l'isoflurane. La traite a alors pu commencer. Le trajet du lait à travers les canaux lactifères et son éjection ont été stimulés par de petits massages des

glandes mammaires, en prenant soin de ne pas abimer les tissus et les canaux lactifères. Les gouttes de lait ont été collectées grâce à une pipette pasteur en verre placée dans de la glace. Après 20 minutes maximum de traite, le lait a été transféré dans des micro-tubes puis congelé et conservé à -80°C avant l'analyse de sa composition.

5. Test de tolérance au glucose (Études 1, 2 et 3)

Les animaux ont été mis à jeun la veille du test. Le lendemain matin, après 16 h de jeûne, les animaux ont été pesés puis laissés au calme sous une lampe chauffante pendant 30 minutes afin d'entraîner une vasodilatation et de faciliter le prélèvement sanguin. L'extrémité de la queue des animaux a ensuite été incisée à l'aide de ciseaux désinfectés à l'alcool 70%. Une prise de sang à la queue a été effectuée afin de déterminer la glycémie et l'insulinémie basales. Une solution de glucose a ensuite été injectée par voie intrapéritonéale à raison de 1g.kg^{-1} de poids corporel (études 1 et 2) ou par voie orale à raison de 2g.kg^{-1} de poids corporel (étude 3). La glycémie a été contrôlée toutes les 5 minutes pendant 45 minutes puis 60, 90 et 120 minutes après l'injection. Après le test, les animaux ont été replacés dans leur cage avec de l'eau et de la nourriture à disposition après que la queue a été désinfectée. Les mesures de glycémies ont été effectuées à l'aide de glucomètres (Accu-Chek, Roche Diabetes Care ®, Meylan, France ou Sensostar, DiaSys Diagnostic Systems ®, Holzheim, Germany). Les valeurs de glycémie ont été représentées en fonction du temps et les aires sous la courbe ont été rapportées au temps $T = 0$ min et exprimées en $\text{mg.dL} \cdot 120$ min. Les prélèvements de sang au temps $T = 0$ min ont été faits dans des tubes héparinés conservés dans la glace. Ils ont ensuite été centrifugés (1200 g, 10 min, 4°C). Le surnageant contenant le plasma a été prélevé et stocké à -80°C jusqu'au dosage de l'insuline.

6. Test de tolérance à l'insuline (Études 1, 2 et 3)

Les animaux ont été mis à jeun le matin de l'expérience. Après 6 h de jeûne, ils ont été pesés puis laissés au calme sous une lampe chauffante pendant 30 minutes afin d'entraîner une vasodilatation et de faciliter le prélèvement sanguin. L'extrémité de la

queue des animaux a ensuite été incisée à l'aide de ciseaux désinfectés à l'alcool 70%. Une prise de sang à la queue a été effectuée afin de déterminer la glycémie basale. Une solution d'insuline (Actrapid, Novo Nordisk) a ensuite été injectée par voie intrapéritonéale à raison de 1 mUI.g⁻¹ de poids corporel. La glycémie a été contrôlée toutes les 10 minutes pendant 60 minutes puis 90 et 120 minutes après l'injection. Après le test, les animaux ont été replacés dans leur cage avec de l'eau et de la nourriture à volonté après désinfection de la queue. Les mesures de glycémies et les prélèvements sanguins ont été effectués comme décrit ci-dessus. Les valeurs de glycémie ont été représentées en fonction du temps et les aires sur la courbe ont été rapportées au temps T = 0 min et exprimées en mg.dL*120 min.

7. Composition corporelle et prélèvement d'organes (Etudes 1, 2 et 3)

Les animaux ont été mis à jeun la veille de l'euthanasie. Le lendemain matin, après 16 h de jeûne, les animaux ont été pesés puis euthanasiés par décapitation. Le sang a été prélevé immédiatement dans des tubes héparinés (Lithium Héparine, Becton Dickinson Vacutainer) et a été rapidement centrifugé à 1200 g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant contenant le plasma a ensuite été récupéré, congelé et stocké à -80°C pour des analyses ultérieures.

Des tissus et organes ont été prélevés et pesés (foie, muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire, tissus adipeux rétropéritonéal, mésentérique et urogénital/épididymal, rein, pancréas) pour estimer d'éventuels changements de la composition corporelle des animaux. Des échantillons de foie et de tissu adipeux épидидymal, le muscle gastrocnémien et le pancréas ont été congelés dans l'azote liquide et conservés à -80°C pour des analyses ultérieures.

8. Test de charge en insuline (Etudes 1, 2 et 3)

Les animaux ont été mis à jeun le matin de l'expérience. Après 6 h de jeûne, les animaux ont été pesés. Une injection intrapéritonéale de NaCl (0,9%) ou d'insuline (10 mIU.g⁻¹ de poids corporel) a été réalisée. Les animaux ont été euthanasiés par décapitation 15 minutes après l'injection. Le foie et le muscle gastrocnémien ont été

rapidement prélevés et congelés dans l'azote liquide puis conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation pour la détermination du niveau de phosphorylation de la Protéine Kinase B par Western Blot. Le sang des rats ayant subi une injection de NaCl a été prélevé immédiatement après la décapitation dans des tubes héparinés (Lithium Héparine, Becton Dickinson Vacutainer) et a été rapidement centrifugé à 1200 g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant contenant le plasma a ensuite été récupéré, congelé et stocké à -80°C pour des analyses ultérieures.

9. Isolement d'ilots pancréatiques et sécrétion d'insuline (Etudes 1, 2 et 3)

Après anesthésie par injection intrapéritonéale de pentobarbital de sodium (5 mg.100 g⁻¹ de poids corporel), les ilots pancréatiques ont été isolés d'après la méthode de Carter et al. (Carter et al. 2009). Les animaux, qui n'étaient pas à jeun, ont subi une laparotomie cruciforme afin de dégager le plus possible le pancréas dans l'abdomen. Le canal pancréatique a été clampé à l'aide d'une pince hémostatique au niveau de son insertion avec le duodénum en veillant à ne pas léser le tissu pancréatique. L'extrémité proximale du canal biliaire a été isolée puis incisée à l'aide de micro-ciseaux sur environ 1/3 de son diamètre. Un cathéter 26G a été inséré et fixé dans le canal biliaire à l'aide d'un fil chirurgical 4/0. L'animal a ensuite été euthanasié par section de l'aorte. Une solution de digestion à base de collagénase (Collagenase from *Clostridium histolyticum* type XI, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France, 10 mg dans 10 mL de Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS)) a été perfusée doucement dans le pancréas (environ 10 mL en 1 min). Tout en veillant à ne pas vider la solution de perfusion, le pancréas a ensuite été prélevé et séparé du tissu adipeux puis placé dans un tube contenant 7,5 mL de HBSS à 4°C. Le tube a été incubé 11 min dans un bain-marie à 37°C. Après l'incubation, le tube a été secoué vigoureusement par mouvements verticaux durant 15 s avant d'y ajouter 25 mL de solution de lavage (HBSS, 5% Sérum de Veau Fœtal (SVF)). Le tube a ensuite été centrifugé (250 g, 2 min, 4°C) et les surnageants éliminés. Le culot a été filtré à travers une grille en métal (pores 425 µm) pour éliminer les débris non digérés et le gras. La grille a été rincée avec 25 mL de solution de lavage. Le culot filtré a été remis en suspension dans la solution de lavage. Le tube a été centrifugé (250 g, 2 min, 4°C) et le surnageant éliminé. La procédure de lavage a été répétée 2 fois. Après la dernière centrifugation, le culot a été conservé dans 5 mL de surnageant. Un gradient discontinu

a été réalisé en plaçant 10 mL d'Histopaque® 1.119 (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) dans un tube de 50 mL. Le culot a été resuspendu dans un mélange de 7.5 mL d'Histopaque® 1.119 et de 3.5 mL d'Histopaque® 1.077. La suspension a été placée sur la couche d'Histopaque® 1.119 puis 10 mL d'Histopaque® 1.077 ont été déposés sur les ilots. 10 mL de HBSS ont été placés au sommet du gradient qui a ensuite été centrifugé (1750 g, 20 min, 20°C, accélération minimale, pas de frein). Après centrifugation, les ilots, visibles aux différentes interfaces ont été collectés ensemble puis lavés 3 fois dans 25 mL de solution de lavage (1 fois à 350 g, 5 min, 4°C et 2 fois à 250 g, 2 min, 4°C). Les ilots ont ensuite été cultivés dans une solution de RPMI, 10% SVF, 1% sodium pyruvate, 1% antibiotique/antimycotique durant une nuit à 37°C. Le lendemain, les ilots ont été placés dans des inserts de culture cellulaire Millicell (Merck Millipore Corporation, Darmstadt, Allemagne) puis préincubés dans une solution de glucose 2,8 mM pendant 1 h à 37°C. Après élimination du milieu d'incubation, ils ont été incubés durant 1 h à 37°C dans une solution de glucose 2,8 mM. Le milieu d'incubation a été collecté et conservé à -80°C. La sécrétion des ilots a ensuite été stimulée en les incubant pendant 1 h à 37°C soit dans une solution de glucose 16,7 mM, soit dans une solution de glucose 2,8 mM + arginine 20 mM (pour les ilots des rats âgés de 3 semaines de l'étude 1 seulement en raison de leur immaturité (Ammon et al. 1989)). Le milieu d'incubation a été collecté et conservé à -80°C. Les ilots ont ensuite été resuspendus dans du Phosphate Buffered Saline (PBS) puis centrifugés (250 g, 1 min, 4°C). Après élimination du surnageant, l'insuline résiduelle a été extraite en plaçant les ilots dans une solution d'éthanol 70%, HCl 0.18 M. Tous les échantillons ont été conservés à -80°C jusqu'au dosage de l'insuline (voir paragraphe 17.).

Les solutions de glucose utilisées pour la sécrétion des ilots étaient composées de glucose 100g.L⁻¹ dilué dans du tampon KRBH composé de NaCl 125 mM, KCl 4,74 mM, NaHCO₃ 5 mM, CaCl₂ 1 mM, MgSO₄ 1,2 mM, K₂HPO₄ 1,2 mM, HEPES 25 mM, BSA 0,1 %, pH 7,4.

10. Contenu en insuline dans le pancréas (Etudes 1, 2 et 3)

Les pancréas congelés ont été homogénéisés dans 6 mL d'une solution d'éthanol 70%, HCl 0.18 M à 4°C à l'aide d'un polytron. Les homogénats de pancréas ont ensuite été placés durant une nuit sur une roue d'agitation (20 rpm, 4°C). Le lendemain, ils ont été

soniqués 2 fois pendant 10 s afin de rompre les cellules puis replacés pendant 2 jours sur la roue d'agitation (20 rpm, 4°C). Les homogénats ont ensuite été centrifugés (150 g, 5 min, 4°C). Les surnageants ont été collectés puis centrifugés (3200 g, 20 min, 4°C). Les surnageants ont été récupérés, dilués dans du tampon KRBH du 500^{ème} au 10000^{ème} en fonction des échantillons pour être dans la gamme du dosage de l'insuline puis conservés à -80°C jusqu'au dosage de l'insuline (voir paragraphe 17.).

11. Histologie du pancréas (Etude 1)

Lors de l'euthanasie de certains rats âgés de 3 semaines de l'étude 1, les pancréas ont été prélevés, placés dans du Tissue-Tek® puis congelés dans l'azote liquide et conservés à -80°C. Des coupes aléatoires ont été réalisées à l'aide d'un cryostat à partir des blocs obtenus. Elles ont été colorées à l'hématoxyline, qui permet de visualiser les noyaux en bleu-noir, et à l'éosine, qui colore le cytoplasme et la matrice extra-cellulaire en rose. Les coupes ont été observées au microscope optique. Des prises de vue ont été enregistrées et analysées à l'aide du logiciel Image J® pour déterminer l'aire des îlots qui a été exprimée en μm^2 .

12. Oxygraphie (Etude 2)

Les animaux ont été mis à jeun la veille du test. Le lendemain matin, après 16 h de jeûne, les animaux ont été pesés puis euthanasiés par décapitation. Le muscle plantaire a rapidement été prélevé afin de préparer des fibres perméabilisées.

12.1. Préparation des fibres perméabilisées

Des fibres isolées perméabilisées de muscle plantaire ont été préparées d'après la méthode décrite par Kuznetsov (Kuznetsov et al. 2008). Des lambeaux de muscle plantaire ont été dilacérés sous une loupe binoculaire dans de la solution A (Tableau 7) à 4°C de façon à séparer les fibres individuellement. Les fibres ont ensuite été perméabilisées dans la solution A additionnée de 50 mg.mL^{-1} de saponine durant 30 min. Elles ont été ensuite lavées 3 fois dans de la solution B (Tableau 7) sous agitation durant 15 min afin d'éliminer la saponine, les nucléotides adényliques et la phosphocréatine. Les fibres ont ensuite été conservées dans de la solution B à 4°C jusqu'à la mesure de leur consommation d'oxygène qui a été réalisée dans une chambre

d'oxygraphie équipée d'une électrode de Clark (Hansatech Oxygraph Instruments, Norfolk, England). Pour chaque mesure, 3 à 8 mg de fibres perméabilisées ont été placés dans 1,5 mL de solution B agitée à 22°C. Après les mesures décrites ci-dessous, les fibres ont été retirées de la chambre, séchées et pesées pour permettre l'expression des niveaux de respiration en $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de poids sec.

Tableau 7. Composition des solutions A et B

Concentrations finales	Solution A	Solution B
CaK ₂ EGTA 2,77 mM	X	X
K ₂ EGTA 7,23 mM (100 nM Ca ²⁺ libre)	X	X
MgCl ₂ 6,56 mM (1 mM Mg ²⁺ libre)	X	X
Taurine 20 mM	X	X
DTT 0,5 mM	X	X
K-méthane sulfonate 50 mM (160 mM de force ionique)	X	X
Imidazole 20 mM (pH 7,1)	X	X
Na ₂ ATP 5,7 mM	X	
Créatine-phosphate 15 mM	X	
Phosphate 3 mM		X
ADP 2 mM		X
BSA délipidée 2 mg.mL ⁻¹		X

12.2. Détermination de la respiration basale (V₀)

La respiration basale a été déterminée en conditions non phosphorylantes, sans ADP, avec du pyruvate (pyr), du palmitoyl DL carnitine (PC) ou du palmitoyl CoA (PCoA) comme substrats en présence de malate (et de carnitine pour le protocole PCoA). Les substrats ont été ajoutés toutes les 3 à 5 min en concentrations croissantes comme contrôle (pyr : 25 à 750 μM , PC : 25 à 400 μM , PCoA : 25 à 400 μM) (Tableaux 8., 9. et 10.), le niveau de respiration devant être constant dans ces conditions non phosphorylantes.

Tableau 8. Protocole V0 - Pyruvate

	Concentration dans la chambre (μM)
Malate	4000
Pyruvate	25
Pyruvate	250
Pyruvate	750
ADP	2000

Tableau 9. Protocole V0 - PC

	Concentration dans la chambre (μM)
Malate	500
Palmitoyl DL carnitine	25
Palmitoyl DL carnitine	150
Palmitoyl DL carnitine	400
ADP	2000
Malate	4000

Tableau 10. Protocole V0 - PCoA

	Concentration dans la chambre (μM)
Malate	500
Carnitine	2000
Palmitoyl CoA	25
Palmitoyl CoA	150
Palmitoyl CoA	400
ADP	2000
Malate	4000

12.3. Mesure de la respiration maximale (V_{max}) et de l'affinité pour les substrats (K_m)

La V_{max} a été mesurée en suivant le protocole de Ponsot et al. (Ponsot et al. 2005) légèrement modifié (Tableaux 11., 12. et 13.). La respiration a été mesurée avec du pyr, du PC ou du PCoA comme substrats ajoutés à des concentrations croissantes (pyr : 10 à 1000 μ M, PC : 10 à 400 μ M, PCoA : 10 à 400 μ M) toutes les 3 à 5 min jusqu'à l'atteinte de V_{max} . Toutes les mesures ont été faites en présence d'ADP 2 mM et de malate ajoutés au début du protocole. Pour la mesure en présence de PCoA, de la carnitine 2mM a été ajoutée (Tableaux 13.). Le malate est ajouté pour permettre le maintien du fonctionnement de la navette malate/aspartate assurant l'entrée des équivalents réduits dans la mitochondrie. La carnitine, quant à elle, permet l'entrée du PCoA via la carnitine palmitoyl transférase 1 (CPT-1) dans la mitochondrie. Dans ces conditions, la concentration en substrat disponible est le seul facteur limitant la respiration mitochondriale. Les valeurs de K_m pour le pyruvate, le PC et le PCoA ont été calculées en utilisant l'équation de Michaelis et Menten. Une addition de cytochrome c a été réalisée de manière aléatoire à la fin de certains protocoles de mesure afin de vérifier que la perméabilité de la membrane mitochondriale n'était pas altérée.

Tableau 11. Protocole V_{max} - Pyruvate

	Concentration dans la chambre (μ M)
Malate	4000
ADP	2000
Pyruvate	10
Pyruvate	25
Pyruvate	75
Pyruvate	150
Pyruvate	250
Pyruvate	500
Pyruvate	750
Pyruvate	1000
Glutamate	5000
Succinate	10000

Tableau 12. Protocole Vmax - PC

	Concentration dans la chambre (μM)
Malate	500
ADP	2000
Palmitoyl DL carnitine	10
Palmitoyl DL carnitine	25
Palmitoyl DL carnitine	75
Palmitoyl DL carnitine	150
Palmitoyl DL carnitine	300
Palmitoyl DL carnitine	400
Malate	4000

Tableau 13. Protocole Vmax - PCoA

	Concentration dans la chambre (μM)
Malate	500
Carnitine	2000
ADP	2000
Palmitoyl CoA	10
Palmitoyl CoA	25
Palmitoyl CoA	75
Palmitoyl CoA	150
Palmitoyl CoA	300
Palmitoyl CoA	400
Malate	4000

13. Western Blots (Etudes 1, 2 et 3)

Le niveau d'expression et le niveau de phosphorylation de protéines d'intérêt ont été déterminés par Western Blot.

13.1. Préparation des échantillons

Des échantillons de foie et de muscle gastrocnémien ont été homogénéisés dans un tampon composé de Tris 50 mM, NaCl 50 mM, EDTA 1 mM, NP-40 0,5%, SDS 0,1%, glycérol 5%, Na₃VO₄ 1 mM et d'un complexe d'inhibiteurs de protéases (Complete EDTA free, Sigma-Aldrich) ajoutés extemporanément, à l'aide d'un broyeur à billes ou de potters en verre (environ 50 mg de tissu pour 1 mL de tampon). Pour les mesures de l'expression de la protéine kinase B, les échantillons de tissus ont été homogénéisés dans un tampon PBS additionné de NP-40 1%, sodium déoxycholate 0.5 %, SDS 0.1%, EDTA 5 mM, Na₃VO₄ 1 mM, NaF 20 mM, DTT 1 mM et d'un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Sigma P2714). Les concentrations protéiques ont été déterminées grâce à la méthode à l'acide bicinchoninique (BCA Protein Assay, Pierce, Rockford, IL) (voir paragraphe 18.). Les échantillons ont ensuite été congelés et conservés à -80°C jusqu'au jour du dosage.

13.2. Electrophorèse

Les échantillons ont été décongelés et un volume d'homogénat correspondant à 20 µg de protéines a été mélangé à un volume de tampon de dénaturation composé de Tris 62,5 mM, Glycérol 5%, SDS 1%, bleu de bromophénol 0,01% et de β-mercaptoéthanol 10 % ajouté extemporanément. Les protéines ont été dénaturées en les incubant pendant 3 à 5 min dans un bain-marie à 95°C. Pour chaque gel, 6 µL de marqueurs de poids moléculaire ont été déposés dans un puits (Precision Plus Protein™ Dual Color Standards, BioRad). Les protéines ont été séparées par électrophorèse sur gel SDS-PAGE en utilisant des gels pré-coulés (mini protean TGX precast gels, 10 puits 50 µL, BioRad). Le tampon de migration était composé de Tris 250 mM, Glycine 192 mM, SDS 0,2%, pH 8,3. La migration s'est faite pendant 1h à 200 V constants avec le système Biorad Mini Protean III.

13.3. Transfert sur membrane PVDF

Les protéines séparées ont ensuite été transférées sur une membrane de polyvinylidène difluoride (PVDF), préalablement réhydratée dans de l'éthanol pur durant 30 s puis équilibrées dans du tampon de transfert (Tris 250 mM, Glycine 192 mM, SDS 0,1%,

méthanol 20%), à l'aide du système TransBlot Biorad. Le transfert s'est fait en 1 h à 200 V constants ou 30 min à 25V-1A pour PKB.

13.4. Saturation et révélation

Après l'étape de transfert, les membranes ont été incubées soit dans du tampon Tris 25 mM, NaCl 150 mM, Tween 20 0,3% (TBS-Tween) additionné de BSA 5% (pour PKB) soit dans du TBS-Tween-lait 5% (pour les autres protéines) pendant 2h à température ambiante pour saturer les sites non spécifiques. Les membranes ont ensuite été incubées sous agitation durant une nuit à 4°C avec les anticorps primaires d'intérêt (Tableau 14.). Le lendemain, les membranes ont été lavées avec du tampon TBS-Tween 3 fois durant 5 minutes. Les membranes ont été ensuite incubées durant 1 h à température ambiante, sous agitation avec les anticorps secondaires couplés à une peroxidase (HRP) spécifiques de l'anticorps primaire correspondant (Tableau 14.) dilués dans du tampon TBS-Tween additionné de BSA 5%. Les membranes ont ensuite été lavées 3 fois 15 min avec du tampon TBS-Tween.

Les réactions anticorps primaires-anticorps secondaires ont été révélées par chemiluminescence. Les membranes ont été incubées pendant 5 minutes dans une solution de révélation (ECL Luminata Classico) avant d'être analysées avec le système BioRad ChemiDoc RXS.

Tableau 14. Anticorps utilisés et conditions d'utilisation

Protéine	Dilution de l'anticorps	Poids moléculaire attendu	Référence
PEPCK (H-300)	1/1000	62 kDa	Santa Cruz 32879
ACC (C83B10)	1/1000	280 kDa	Cell signaling 3676
pACC ^{Ser 79}	1/1000	280 kDa	Cell signaling 3661
GSK3 (27C10)	1/2000	46 kDa	Cell signaling 9315
pGSK3 ^{Ser 9}	1/2000	46 kDa	Cell signaling 9323
Akt/PKB	1/2000	60 kDa	Cell signaling 9272
pAkt/PKB ^{Ser 473}	1/1000	60 kDa	Cell signaling 9271
FAS	1/1000	273 kDa	Cell signaling 3180
Anticorps secondaire	1/5000 ou 1/10000 (PKB)		Millipore AQ132P ou Biorad #172-10-19 ou antirabbit (PKB)

PEPCK : phosphoenolpyruvate carboxykinase, enzyme impliquée dans la néoglucogénèse qui convertit l'oxaloacétate en phosphoenolpyruvate et dioxyde de carbone (Etudes 1 et 2).

ACC : acétyl-coenzyme A carboxylase, enzyme qui intervient dans la première étape de la synthèse des acides gras. Elle catalyse la carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl Co-A (Etude 1).

GSK-3 : Glycogen Synthase Kinase-3, sérine-thréonine kinase qui phosphoryle et inactive la glycogène synthase (Etudes 1 et 2).

PKB : Protein Kinase B, protéine de la voie de signalisation de l'insuline. La PKB phosphorylée va notamment être impliquée dans la translocation des GLUT 4 au niveau membranaire ou encore dans l'inhibition de la GSK-3 entraînant une glycogénogénèse (Etudes 1, 2 et 3).

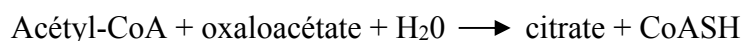
FAS : Fatty Acid Synthase, enzyme impliquée dans la synthèse des acides gras. Elle catalyse la synthèse de palmitate à partir de malonyl Co-A et d'Acétyl Co-A en présence de NADPH (Etudes 1 et 2).

14. Dosages enzymatiques (Etudes 1 et 2)

Des homogénats de foie et de muscle gastrocnémien ont été réalisés en vue d'évaluer l'activité de certaines enzymes.

14.1. La citrate synthase

La citrate synthase est une enzyme qui intervient lors de la première étape du cycle de l'acide citrique ou cycle de Krebs et qui est spécifique de la matrice mitochondriale. Son activité est considérée comme un reflet de la densité mitochondriale et plus spécifiquement de la quantité de cycle de Krebs (Holloszy and Coyle 1984). Elle catalyse la réaction suivante :



Le dosage de l'activité de la citrate synthase se fait par spectrophotométrie, selon la technique colorimétrique de Srere (1969). Elle consiste en un suivi de l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 412 nm. Celle-ci correspond à l'absorption de la lumière par le TNB. Le TNB est formé à partir du 5,5' dithiobis (2-nitrobenzoïque) (DTNB) qui est apporté dans le milieu réactionnel pour le dosage. Le DTNB réagit avec les groupements sulfhydriles (SH) du CoASH pour former du CoATNB et du TNB.

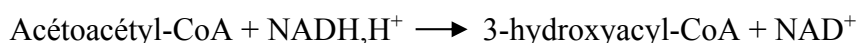
Un aliquot d'homogénats (Tableau 15.) de muscle gastrocnémien ou de foie, dilués entre le 1/10^{ème} et le 1/20^{ème} dans du tampon phosphate additionné d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases, a été incubé dans 1 mL (volume final) de milieu réactionnel composé de DTNB 150 µM, acétylcoenzyme A 100 µM, Tris 150 mM, Triton 0,05%, pH 8 à 30°C. L'activité non spécifique a été déterminée par la mesure de la densité optique pendant 2 min à 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Specord 210, Analytic Jena). La réaction a ensuite été débutée par l'ajout de 0,5 mM d'oxaloacétate. L'activité totale a été déterminée par le suivi de la densité optique pendant 3 min. L'activité spécifique de la citrate synthase a été calculée après soustraction de l'activité non spécifique à cette activité totale et les résultats ont été exprimés en µmol.min⁻¹.g⁻¹ de protéines, à l'aide du coefficient d'extinction (ε) égal à 13,6 mM⁻¹.cm⁻¹.

Tableau 15. Quantités d'homogénat utilisées pour le dosage de l'activité de la citrate synthase

Etude	Foie	Muscle
Etude 1 - Ratons 3 semaines	20 µL	30 µL
Etude 1 - Rats 7 mois	20 µL	20 µL
Etude 2	30 µL	20 µL

14.2. La 3-hydroxyacyl-Coenzyme A déshydrogénase

La 3-hydroxyacyl-Coenzyme A déshydrogénase (HAD) est une enzyme qui intervient dans l'oxydation des acides gras dans la mitochondrie. Elle catalyse la troisième étape de la beta-oxydation, la réaction de décarboxylation des acyl-CoA en libérant du NADH,H⁺. L'activité de la HAD a été mesurée en utilisant la réaction inverse, en mesurant la disparition du NADH,H⁺ par spectrophotométrie:



Le dosage consiste en un suivi de la diminution de l'absorbance à la longueur d'onde 340 nm qui résulte de l'oxydation du NADH,H⁺ et de la réduction de l'acétoacétyl-CoA.

Un aliquot d'homogénats (Tableau 16.) de muscle gastrocnémien ou de foie, dilués entre le 1/10^{ème} et le 1/20^{ème} dans du tampon phosphate additionné d'inhibiteurs de protéases et de phosphatases, a été incubé dans 1mL (volume final) de milieu réactionnel composé d'EDTA 60 μM, NADH,H⁺ 200 μM, Imidazole 40 mM, pH 7 à 30°C. L'activité non spécifique a été déterminée par la mesure de la densité optique pendant 2 min à 340 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Specord 210, Analytic Jena). La réaction a ensuite été débutée par l'ajout de 50 μM d'Acétoacétyl-CoA et l'activité totale a été déterminée par le suivi de la densité optique durant 3 min. L'activité spécifique de la HAD a été calculée après soustraction de l'activité non spécifique à cette activité totale et les résultats ont été exprimés en μmol.min⁻¹.g⁻¹ de protéines à l'aide du coefficient d'extinction (ε) égal à 6,22 mM⁻¹.cm⁻¹.

Tableau 16. Quantités d'homogénat utilisées pour le dosage de l'activité de la 3-hydroxyacyl-Coenzyme A déshydrogénase

Etude	Foie	Muscle
Etude 1 - Ratons 3 semaines	2 μL	50 μL
Etude 1 - Rats 7 mois	2 μL	50 μL
Etude 2	5 μL	50 μL

14.3 L'énolase

L'énolase est une enzyme de la glycolyse qui catalyse la conversion du 2-phospho-D-glycérate (2-PGA) en phosphoénolpyruvate (PEP). L'activité de l'énolase a été mesurée de manière indirecte par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 340 nm., en mesurant la disparition du NADH, oxydé par le couplage des réactions catalysées par la pyruvate kinase (PK) et la lactate déshydrogénase (LDH), comme indiqué sur la Figure 13..

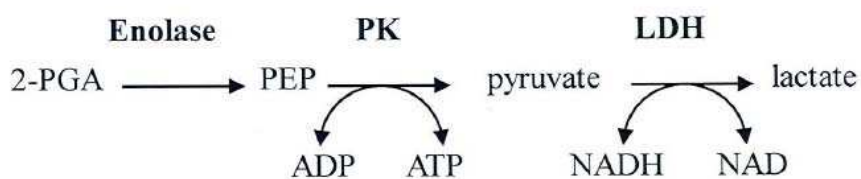


Figure 13. Principe du dosage de l'énolase par spectrophotométrie

Un échantillon correspondant à 1 mg de protéines a été incubé dans un tampon composé de 2-PGA 2 mM, imidazole 50 mM, Mg-acétate 4 mM, KCl 40 mM, BSA 0,2 %, ADP 2 mM, PK 3 U/mL, LDH 5 U/mL, β -NADH 1 mM. L'activité totale a été déterminée par la mesure de la densité optique à 37 °C pendant 10 min à 340 nm. L'activité non spécifique a été déterminée par la mesure de la densité optique dans le même échantillon mais sans ajout préalable de 2-PGA et a été soustraite à l'activité totale pour donner l'activité spécifique exprimée en $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ de protéines.

15. Dosage du glycogène dans le foie (Etudes 1 et 2)

Environ 100 mg de foie ont été hydrolysés dans 1 mL de KOH 40 % dans des tubes corex de 15 mL (volume V1). Les tubes ont été bouchés et incubés durant 30 min à 100°C. Après refroidissement, le glycogène a été précipité dans l'hydrolysate alcalin par addition d'éthanol 95 % (volume V2 correspondant à 3 fois le volume V1). Les tubes ont été agités puis placés durant une nuit à -20 °C afin de précipiter le glycogène. Le lendemain, les tubes ont été centrifugés pendant 15 min (10000 g, 0°C). Les surnageants ont été éliminés et les culots ont été séchés par retournement des tubes pour éliminer les

dernières gouttes sur les parois. Le culot de glycogène a été remis en suspension dans un volume d'HCl 2N égal au volume V1. Les tubes fermés ont ensuite été placés au bain-marie durant 3 h à 100°C. Après refroidissement, les extraits ont été neutralisés avec un volume de NaOH 2N égal au volume V1. Le pH a ensuite été ajusté à 7 et le volume final mesuré. Le glucose a été dosé à l'aide d'un kit (Sigma Glucose Trinder) fonctionnant selon le principe suivant : le glucose de l'échantillon est oxydé en acide gluconique avec libération de peroxyde d'hydrogène au cours d'une réaction catalysée par la glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit avec la 4-aminoantipyrine et le p-hydrobenzène sulfonate en présence de peroxydase pour former une quinonéimine colorée dont le maximum d'absorbance est à 505 nm. La DO mesurée à 505 nm est proportionnelle à la concentration de glucose dans l'échantillon. Un échantillon-étalon de glucose (standard) d'une concentration connue a été traité dans les mêmes conditions. La concentration en unités de glucose a été calculée avec la formule suivante : $[\text{Glucose}] = (\text{absorbance échantillon}/\text{absorbance standard}) * [\text{standard}]$. La concentration obtenue a été rapportée par rapport au volume d'homogénat et au poids du tissu ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de tissu).

16. Analyse du lait maternel (Etude 3)

16.1. Dosage des protéines du lait

Les protéines du lait ont été dosées sur des échantillons dilués au 1/200^{ème} dans de l'eau ultra-pure par la méthode à l'acide bicinchoninique (BCA) (voir paragraphe 18.).

16.2. Dosage des lipides du lait

La composition en acides gras des laits des rates a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (Clarus 680 avec détecteur FID, PerkinElmer, Courtaboeuf), en collaboration avec M. Armand (CRMBM, UMR CNRS 7339, Faculté de Médecine Timone, Aix-Marseille Université, Marseille). Les acides gras sont libérés de leurs molécules vecteurs et transméthylés à partir de 10 μl d'échantillon de lait directement par chauffage à 100°C pendant 1 h en présence de méthanol/hexane (4/1, v/v) et de chlorure d'acétyle (Bernard et al. 2015). Les esters méthyliques d'acides gras sont

ensuite injectés sur une colonne fast BPX 70 (longueur 10 m, diamètre interne 0,1 mm, épaisseur de film 0,2 μm , SGE Analytical Science, Australie) et sont séparés en fonction de leur nombre de carbones (gaz vecteur hydrogène à 30 psi). La température de l'injecteur est fixée à 250°C, la température du détecteur FID est à 280°C. La programmation en température du four est la suivante: température initiale de 60°C maintenue pendant 30 s, et augmentation de 20°C.min⁻¹ jusqu'à 200°C, puis augmentation de 7°C.min⁻¹ jusqu'à 225°C avec stabilisation pendant 1 min suivie par une augmentation de 160°C.min⁻¹ jusqu'à 250°C avec stabilisation pendant 1 minute. Les acides gras sont identifiés par leur temps de rétention comparativement à un standard approprié (PUFA 3, Sigma-Supelco). La proportionnalité des aires des pics des acides gras détectés (de C6 à C22) est contrôlée à l'aide d'un standard externe contenant 52 esters méthyliques d'acides gras différents en quantité bien précise (GLC 674 Nu-Chek Prep, USA). La quantification est réalisée à l'aide d'un marqueur interne (acide tridecanoïque, C13:0, Sigma). Les acides gras sont exprimés en pourcentage des acides gras totaux détectables et/ou en mg.ml⁻¹ de lait.

17. Dosage de l'insuline (Etudes 1, 2 et 3)

En raison des quantités différentes d'insuline attendues selon les expérimentations, l'insuline a été dosée par kit ELISA (ALPCO, USA), pour l'insulino-sécrétion des îlots et l'insuline plasmatique après 16h de jeûne des rats de 3 semaines dans l'étude 1, et par RadioImmunoAssay (RIA) (Merck Millipore Corporation, Darmstadt, Allemagne), pour les autres échantillons. En effet, le kit ELISA permet de détecter des concentrations d'insuline de l'ordre de 0,001 à 0,1 ng.mL⁻¹ alors que les kits RIA permettent de détecter des concentrations d'insuline comprises entre 0,02 et 1 ng. mL⁻¹ ou entre 0,1 et 10 ng.mL⁻¹ selon le kit utilisé (INSCT et INSRI respectivement).

18. Dosage des protéines (Etudes 1, 2 et 3)

Les concentrations protéiques ont été mesurées à l'aide de la méthode à l'acide bicinchoninique (kit BCA Protein Assay, Pierce, Rockford, IL). En milieu alcalin, les liaisons peptidiques des protéines réduisent les ions Cu²⁺ en ions Cu⁺. L'acide bicinchoninique va alors chélater les ions Cu⁺ et former un complexe soluble coloré en

violet dont le pic d'absorption est à 562 nm. L'absorbance suivie par spectrophotométrie est proportionnelle à la concentration protéique de l'échantillon. Cette dernière est calculée grâce à une courbe-étalon établie de la même manière à partir d'une gamme de dilutions d'une solution de BSA à 2 mg.mL⁻¹.

Les échantillons de foie et de muscle à doser ont été dilués du 10^{ème} au 50^{ème} selon les échantillons avec de l'eau ultra-pure. Des aliquots de 25 µL d'échantillons dilués et de dilutions de BSA ont été déposés en triplicata sur une microplaque de puits auxquels 200 µL de réactif de Pierce® ont été ajoutés. La microplaque a ensuite été incubée durant 30 minutes à 37°C. L'absorbance de chaque puits a été lue grâce à un lecteur de plaques (ELX800 BioTek Instruments) à 562 nm. Le traitement des résultats a été effectué avec le logiciel KC Junior. Ceux-ci ont été exprimés en mg.mL⁻¹ après correction prenant en compte la dilution.

19. Analyses statistiques

Les données sont exprimées en tant que moyennes ±SEM. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Sigma Plot. Les variables ont été comparées en utilisant des tests ANOVA à une ou deux voies, à mesures répétées ou non. Lorsque des différences existaient, un test post-hoc (Holm-Sidak) a été réalisé pour isoler les différences. Lorsque les valeurs n'étaient pas distribuées selon la loi normale, un test non paramétrique (Kruskall-Wallis) a été appliqué. Le seuil de significativité a été fixé à 5 % (P<0,05) et un seuil de tendance a été choisi à 20% (P<0,2).

RESULTATS - DISCUSSION

I. Etude 1 :

**Effets à court terme et à long terme de l'entraînement
maternel durant la gestation sur l'homéostasie du glucose et la
fonction pancréatique de la descendance**

"Short-term and long-term effects of submaximal maternal exercise on offspring glucose homeostasis and pancreatic function"

Quiclet C, Siti F, Dubouchaud H, Vial G, Berthon P, Fontaine E, Batandier C, Couturier K.

Am J Physiol Endocrinol Metab. 2016, 311(2): E508-E518
doi: 10.1152/ajpendo.00126.2016. Epub 2016 Jul 5.

En annexe

I.1. Résultats ETUDE 1 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la gestation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance

I.1.1 Caractéristiques des mères

Tableau 17. Poids corporel et poids relatif des organes des mères après la lactation

	CT	TR
Poids avant l'étude (g)	260±5	260±4
Poids avant la gestation (g)	277±22	276±19
Poids après la lactation (g)	297±7	286±4
Pancréas (g.kg ⁻¹)	4,34±0,32	4,26±0,18
Foie (g.kg ⁻¹)	26,01±0,98	30,34±1,94
Rein (g.kg ⁻¹)	2,89±0,13	3,17±0,08
Tissu adipeux (g.kg ⁻¹)	54,30±5,97	39,45±2,65*
Muscles (g.kg ⁻¹)	5,90±0,24	6,02±0,11

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=9 pour CT et n=12 pour TR). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétro-péritonéal, urogénital et mésentérique. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire. Les masses des différents organes ont été rapportées par kg de poids corporel.
* : $P < 0,05$ vs. CT.

Le poids corporel des rates entraînées (TR) et contrôles (CT) était similaire au début de l'étude et après les 4 premières semaines d'entraînement. Après l'allaitement, le poids corporel des mères TR tendait à être plus faible que celui des mères CT (286 ± 4 vs. 297 ± 7 g respectivement, $P=0,136$). L'entraînement des rates n'avait pas affecté le poids des organes tels que le foie, le rein, le pancréas ou les muscles soléaire, gastrocnémien et plantaire. Toutefois, la masse relative des tissus adipeux mesurés était significativement plus faible chez les rates TR par rapport aux rates CT après l'allaitement, soit 3 semaines après l'arrêt de l'entraînement ($39,5 \pm 2,7$ vs. $54,3 \pm 6,0$ g.kg⁻¹, respectivement, $P < 0,05$) (Tableau 17.).

I.1.2. Caractéristiques des portées

Tableau 18. Caractéristiques des portées

	CT	TR
Taille de la portée	12,1 \pm 2,0	10,9 \pm 3,8
Nombre de mâles	5,2 \pm 1,8	5,2 \pm 2,5
Nombre de femelles	6,9 \pm 2,0	5,7 \pm 2,6
Poids corporel J7 (g)	16,1 \pm 1,0	16,9 \pm 0,6
Poids corporel J14 (g)	32,5 \pm 1,3	32,9 \pm 0,9
Poids corporel J21 (g)	50,9 \pm 1,7	50,1 \pm 1,0

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=9 pour CT et n=12 pour TR). Le poids corporel moyen est calculé en divisant le poids de la portée par le nombre de rats mâles et/ou femelles dans la portée.

Le nombre total de petits ainsi que le nombre de mâles et de femelles par portée n'étaient pas différents entre les groupes TR et CT. Le poids corporel des petits n'a pas été affecté par l'entraînement de la mère avant le sevrage (Tableau 18.).

I.1.3. Caractéristiques de la descendance

I.1.3.1 Poids corporel et des organes, aire des ilots pancréatiques au sevrage

Tableau 19. Poids corporel et poids relatif des organes de la descendance au sevrage et à 7 mois et aire des ilots pancréatiques au sevrage

	Sevrage		7 mois	
	CT	TR	CT	TR
Poids corporel (g)	51,6±3,4	47,5±1,2	506,9±24,5	528,8±16,6
Poids des organes (g.kg ⁻¹)				
Foie	31,81±0,75	30,97±0,19	27,88±0,76	28,36±0,84
Rein	6,02±0,11	5,99±0,11	2,26±0,03	2,38±0,05
Tissu adipeux	8,68±0,57	9,00±0,35	45,97±4,38	54,71±3,04
Muscles	4,58±0,13	4,54±0,07	5,97±0,21	5,53±0,24
Pancréas	4,54±0,14	3,96±0,18*	2,94±0,17	3,03±0,11
Aire des ilots (µm ²)	44669±6761	22822±4036*		

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=16 pour CT et n=17 pour TR au sevrage ; n=8 pour CT et n=6 pour TR à 7 mois ; n=11 à 13 pour l'aire des ilots). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétropéritonéal, épидидymal et mésentérique. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire. Les masses des différents organes ont été rapportées par kg de poids corporel. * : $P < 0,05$ vs. CT au sevrage.

Au sevrage, le poids corporel et le poids relatif des organes n'étaient pas différents entre les rats des deux groupes sauf celui du pancréas. En effet, le poids relatif du pancréas rapporté par kg de poids corporel était significativement plus faible chez les rats du groupe TR par rapport à ceux du groupe CT (3,96±0,18 vs. 4,54±0,14 g.kg⁻¹, respectivement, $P < 0,05$) (Tableau 19.). De plus, l'aire moyenne des ilots pancréatiques mesurée chez les rats de 3 semaines était significativement plus faible chez les rats du groupe TR comparés à ceux du groupe CT (Tableau 19., Figure 14.). A l'âge de 7 mois, aucune différence n'a été trouvée concernant le poids corporel et celui des organes

des rats des deux groupes, y compris celui du pancréas (Tableau 19.). Toutefois, le poids relatif des tissus adipeux tendait à être plus élevé ($P=0,153$) et le poids relatif des muscles à être réduit ($P=0,183$) chez les rats du groupe TR comparés à ceux du groupe CT (Tableau 19.).

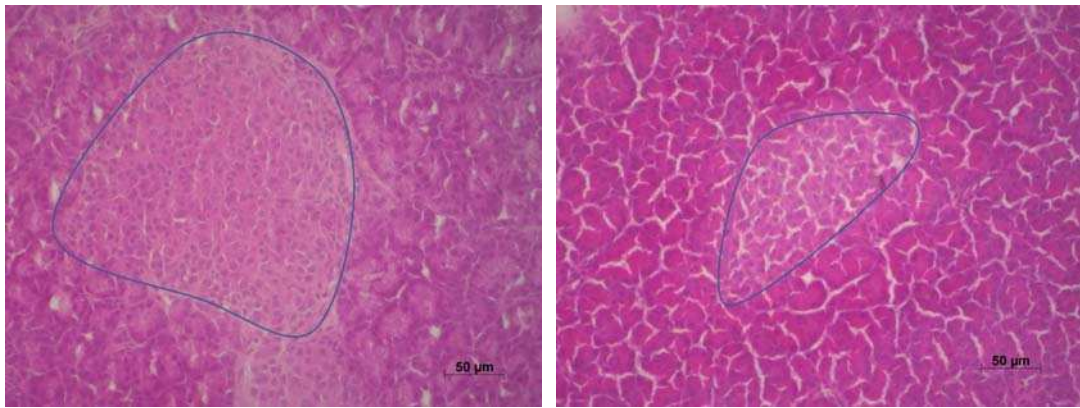


Figure 14. Coupes histologiques de pancréas avec un ilot entouré en bleu d'un raton CT (à gauche) et d'un raton TR (à droite).

I.1.3.2. Paramètres sanguins

I.1.3.2.1. Glycémie

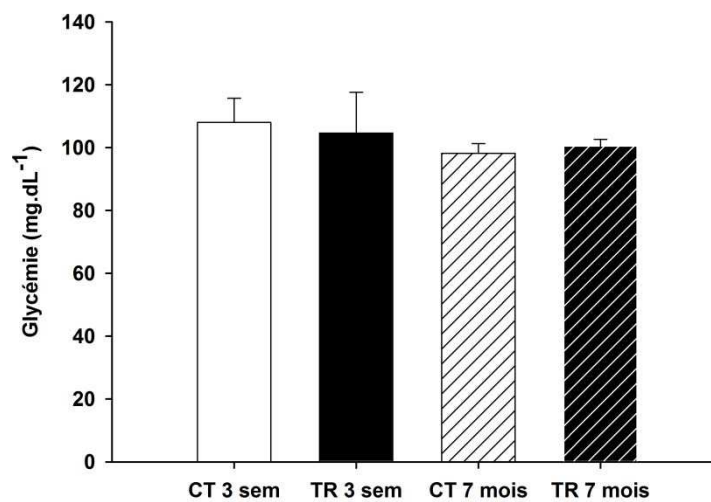


Figure 19. Glycémie après 16h de jeûne chez la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 12).

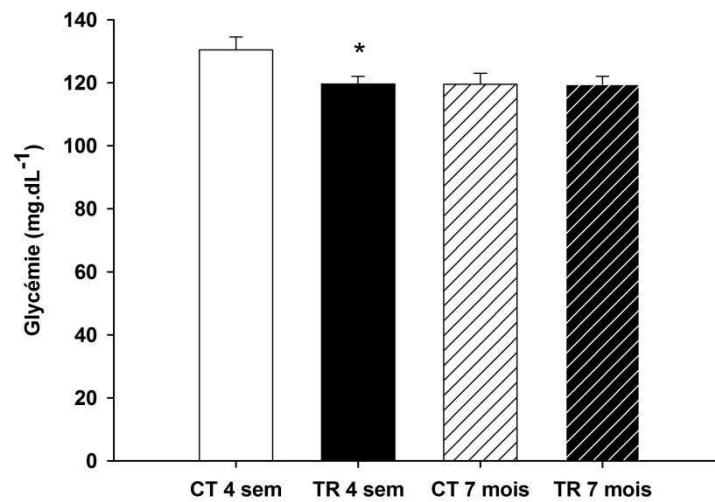


Figure 20. Glycémie après 6h de jeûne chez la descendance à l'âge de 28 jours (4 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 13). * : $P < 0,05$ vs. CT 4 sem.

I.1.3.2.2. Insulinémie

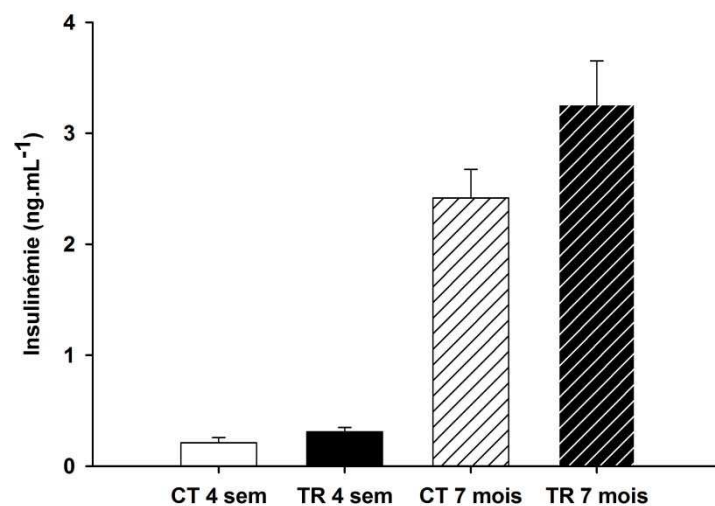


Figure 21. Insulinémie après 6h de jeûne chez la descendance à l'âge de 28 jours (4 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n= 6 à 13).

Après un jeûne de 16 heures, la glycémie des rats âgés de 21 jours était similaire entre les deux groupes (Figure 19.).

Après 6h de jeûne, la glycémie des rats de 28 jours issus de mères TR était significativement plus faible que celle des rats issus de mères CT ($119,7 \pm 2,4$ vs. $130,5 \pm 4,1$ mg.dL⁻¹, respectivement, $P < 0,05$) (Figure 20.). L'insulinémie n'était pas significativement différente entre les deux groupes même si elle tendait à être plus élevée chez les rats du groupe TR ($0,31 \pm 0,04$ vs. $0,21 \pm 0,05$ ng.mL⁻¹ pour les groupes TR et CT, respectivement, $P = 0,158$) (Figure 21.).

Chez les rats âgés de 7 mois, la glycémie était similaire entre les deux groupes, quelle que soit la durée du jeûne (Figures 19. et 20.). L'insulinémie après 6 heures de jeûne tendait à être plus élevée chez les animaux du groupe TR ($3,26 \pm 0,40$ vs. $2,42 \pm 0,26$ ng.mL⁻¹ pour les groupes TR et CT, respectivement, $P = 0,101$) (Figure 21.).

I.1.3.3. Tolérance au glucose

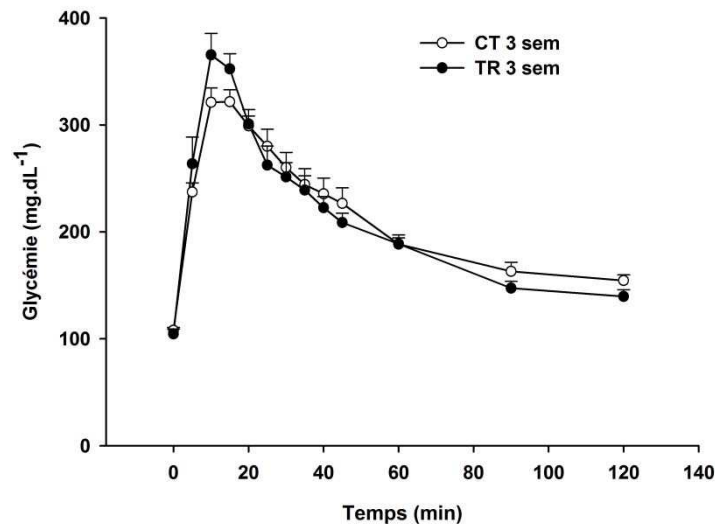


Figure 22. Effet de l'entraînement des mères sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 21 jours sur 120 min et après 16h de jeûne lors du test ipGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8).

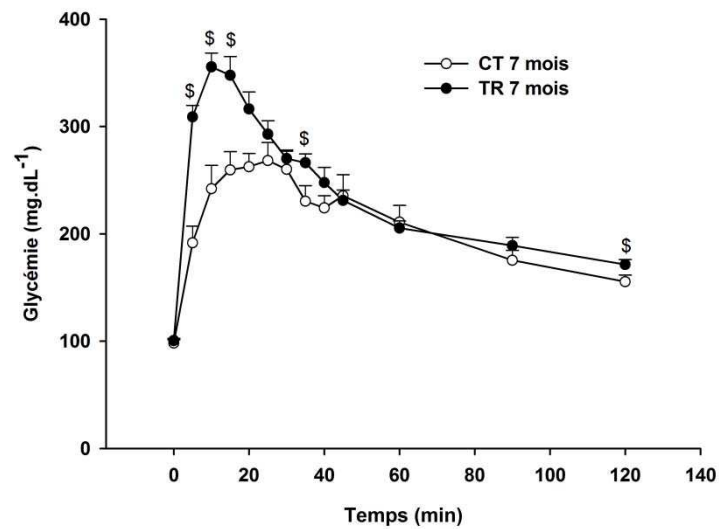


Figure 23. Effet de l'entraînement des mères sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 7 mois sur 120 min et après 16h de jeûne lors du test ipGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=9 à 12). \$: $P < 0,05$ vs. CT 7 mois.

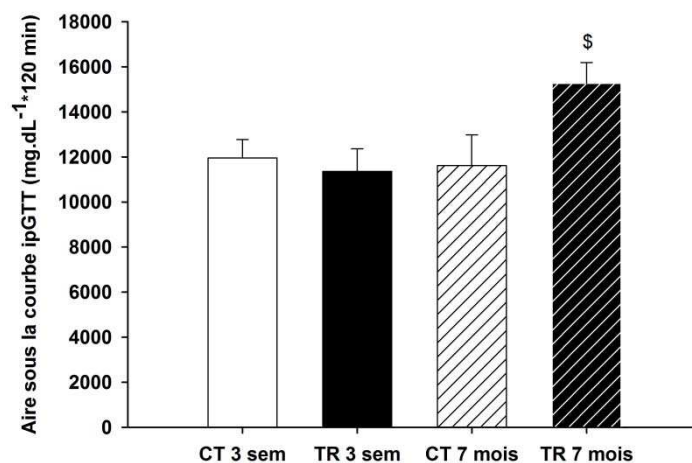


Figure 24. Effet de l'entraînement des mères sur la tolérance au glucose de la descendance âgée de 21 jours (3 sem) et 7 mois, estimée par l'aire sous la courbe de glycémie obtenue lors du test ipGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 12). \$ $P < 0,05$ vs. CT 7 mois.

Au sevrage, la tolérance au glucose n'est pas différente entre les rats des groupes TR et CT. En effet, durant toute la durée du test ipGTT, la glycémie n'était pas différente entre les deux groupes (Figure 22.). Cela est confirmé par l'aire sous la courbe rendant compte de l'élimination du glucose sanguin, qui n'était pas significativement différente entre les rats des deux groupes (Figure 24.).

A l'âge de 7 mois, les niveaux de glucose sanguins étaient plus élevés chez les animaux du groupe TR durant les 15 premières minutes du test ipGTT (Figure 23.). De plus, l'aire sous la courbe rendant compte de l'élimination du glucose sanguin, était significativement plus élevée chez les rats issus de mères TR par rapport à ceux issus de mères CT (15258 ± 924 vs. 11614 ± 1366 mg.dL⁻¹ *120 min, respectivement, $P < 0,05$) (Figure 24.).

I.1.3.4. Sensibilité à l'insuline

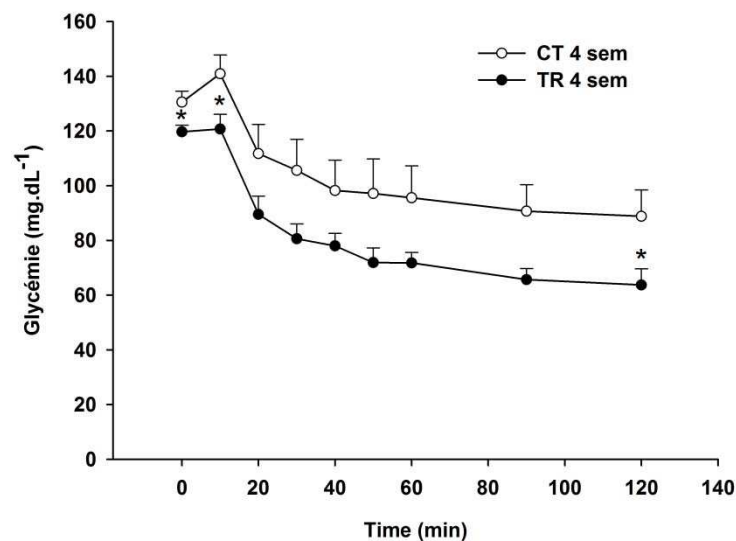


Figure 25. Effet de l'entraînement des mères sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 28 jours sur 120 min et après 6h de jeûne lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 12). * : $P < 0,05$ vs. CT 4 sem.

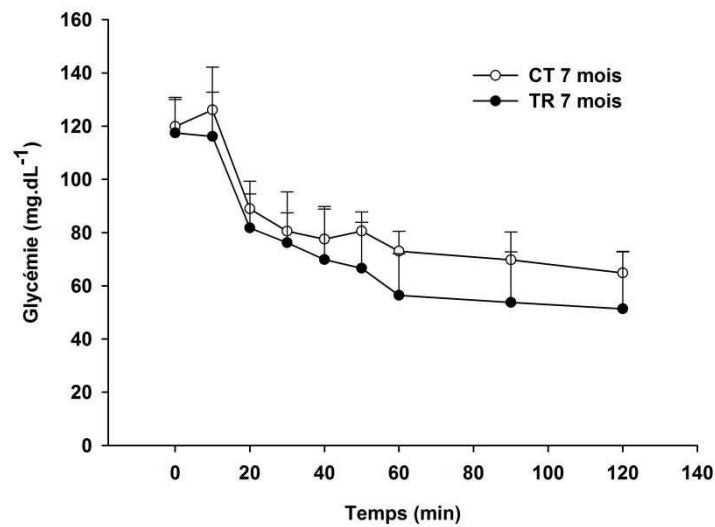


Figure 26. Effet de l'entraînement des mères sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 7 mois sur 120 min et après 6h de jeûne lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=12 à 13).

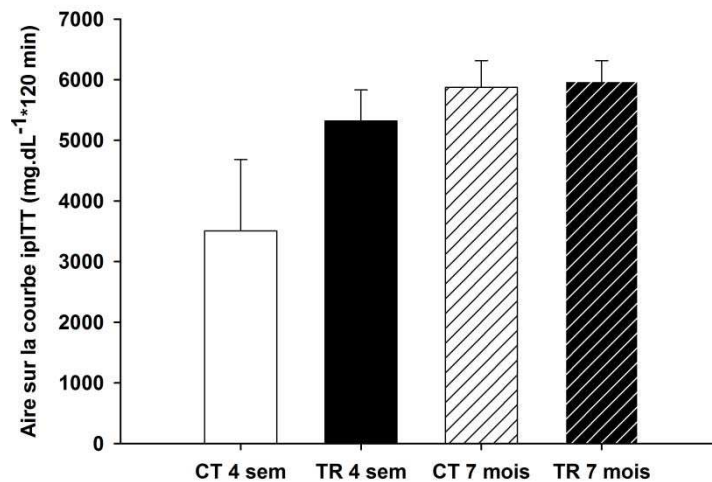


Figure 27. Effet de l'entraînement des mères sur la sensibilité à l'insuline de la descendance âgée de 28 jours (4 sem) et 7 mois, estimée par l'aire sur la courbe de glycémie obtenue lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 13).

A l'âge de 28 jours, les rats issus de mères TR avaient des niveaux de glucose sanguin plus faibles que ceux issus de mères CT durant toute la durée du test ipITT, avec des différences significatives aux temps T = 0, 10 et 120 min (Figure 25.). Toutefois, l'aire sur la courbe de glycémie n'était pas significativement différente entre les deux groupes (Figure 27.).

Chez les rats âgés de 7 mois, les niveaux de glucose sanguin n'étaient pas différents entre les animaux des deux groupes pendant toute la durée du test ipITT (Figure 26.). L'aire sur la courbe de glycémie du test ipITT était donc similaire entre les rats des groupes TR et CT (Figure 27.).

I.1.3.5. Signalisation de l'insuline hépatique et musculaire

La voie de signalisation de l'insuline a été étudiée en mesurant le niveau d'expression de PKB et de sa forme phosphorylée (pPKB) dans le foie et le muscle gastrocnémien après injection d'une charge en NaCl ou en insuline.

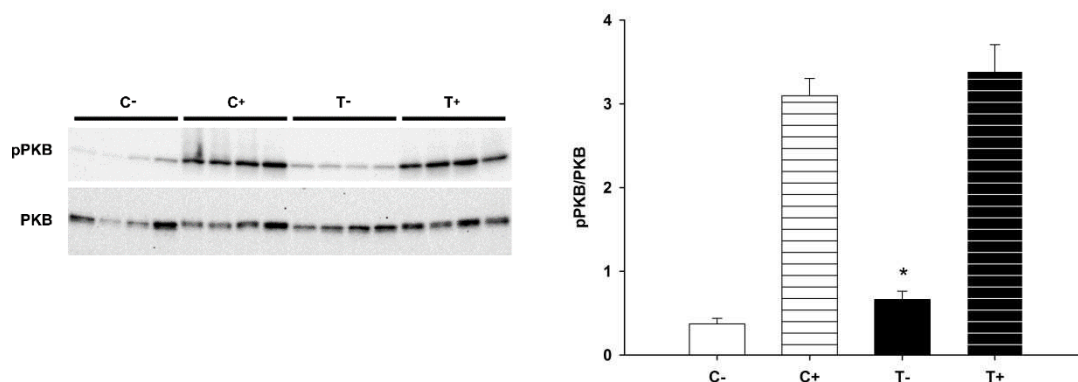


Figure 28. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) à gauche et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB à droite dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours, après injection de NaCl (C- et T-) ou d'une charge en insuline (C+ et T+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8). * : $P < 0,05$ vs. C-.

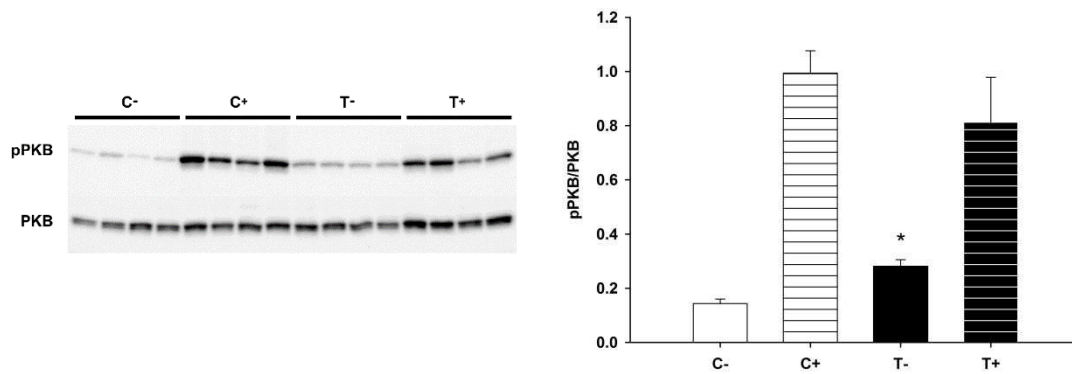


Figure 29. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) à gauche et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB à droite dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 21 jours, après injection de NaCl (C- et T-) ou d'une charge en insuline (C+ et T+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8). * : $P < 0,05$ vs. C-.

Au sevrage, en conditions basales (après injection de NaCl), le rapport pPKB/PKB était significativement plus élevé chez les rats du groupe TR par rapport à ceux du groupe CT (T- et C-, respectivement), que ce soit dans le foie (+77%, $P < 0,05$) ou dans le muscle (+97%, $P < 0,05$) (Figures 28. et 29.). Ces différences n'étaient pas retrouvées en conditions stimulées par l'insuline (T+ et C+) que ce soit dans le foie ou dans le muscle (Figures 28. et 29.).

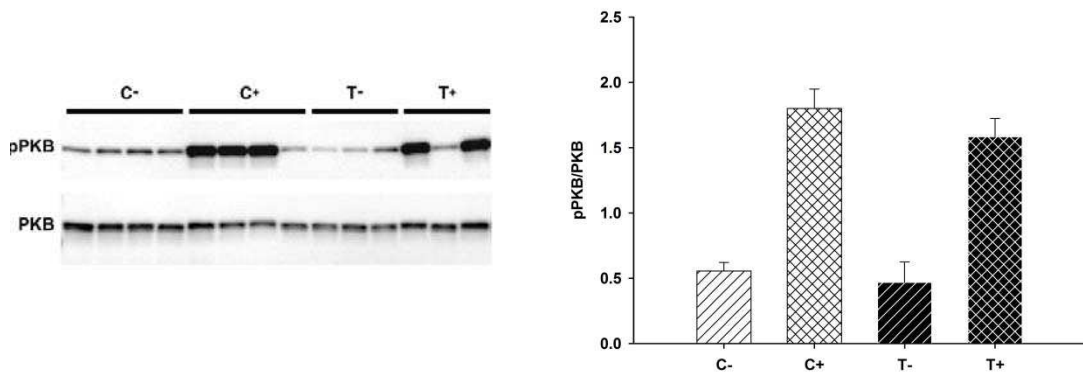


Figure 30. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) à gauche et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB à droite dans le foie de la descendance à l'âge de 7 mois, après injection de NaCl (C- et T-) ou d'une charge en insuline (C+ et T+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=3 à 4).

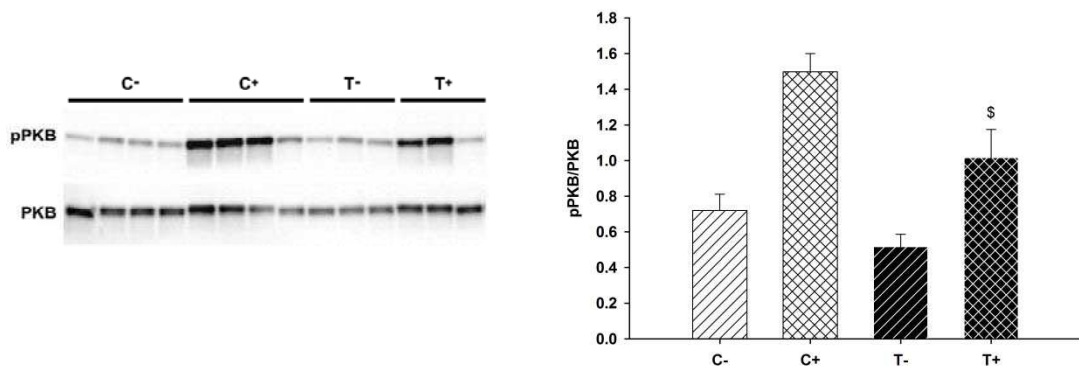


Figure 31. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) à gauche et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB à droite dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 7 mois, après injection de NaCl (C- et T-) ou d'une charge en insuline (C+ et T+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=3 à 4). \$: $P < 0,05$ vs. C+.

A l'âge de 7 mois, le rapport pPKB/PKB était similaire dans le foie des rats issus de mères TR et CT quelle que soit la condition (charge en NaCl ou en insuline) (Figure 30.). Dans le muscle, le rapport pPKB/PKB après une charge en insuline était significativement plus faible chez les rats du groupe TR (TR+) comparés à ceux du groupe CT (CT+) (- 32%, $P < 0.05$) (Figure XX), alors qu'il était similaire entre les deux groupes en conditions basales, après injection de NaCl (T- vs. C-) (Figure 31.).

I.1.3.6. Contenu en insuline du pancréas et sécrétion d'insuline par les ilots

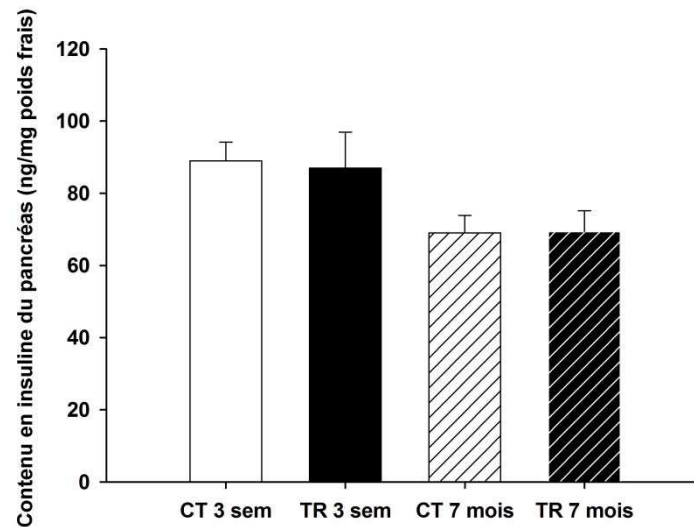


Figure 32. Contenu en insuline dans le pancréas de la descendance issue de mères sédentaires (CT) ou entraînées (TR) à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

Le contenu en insuline du pancréas n'était pas différent entre les animaux des groupes TR et CT, que ce soit à l'âge de 3 semaines ou de 7 mois (Figure 32.).

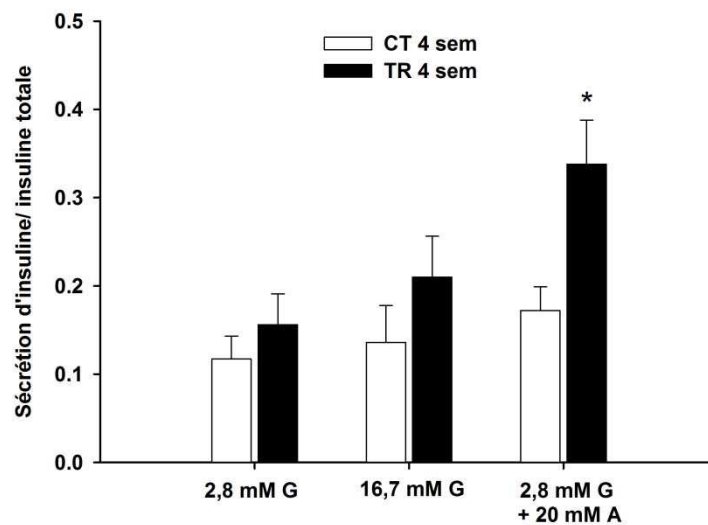


Figure 33. Sécrétion d'insuline par les ilots de la descendance issue de mères sédentaires (CT) ou entraînées (TR) âgée de 30 jours après incubation en bas glucose (2,8 mM G) puis en haut glucose (16,7 mM G) ou en bas glucose (2,8 mM G) + arginine (20 mM A). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 10). * : $P < 0,05$ vs. CT 3 sem.

La sécrétion d'insuline par les ilots des rats âgés de 30 jours du groupe TR n'était pas différente de celle des ilots des rats du même âge du groupe CT, que ce soit en condition bas glucose (2,8 mM) ou haut glucose (16,7 mM) (Figure 33.). Cependant, la sécrétion d'insuline par les ilots des rats du groupe TR était significativement plus élevée que celles des ilots des rats du groupe CT en conditions bas glucose (2,8 mM) + arginine (20 mM) (+ 96%, $P=0,01$) (Figure 33.).

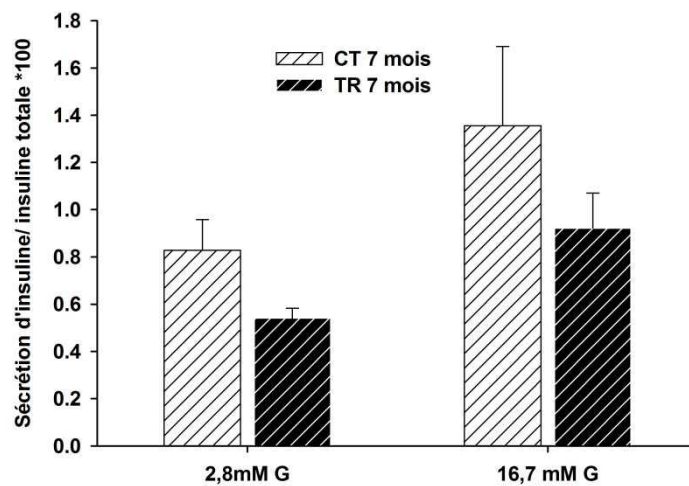


Figure 34. Sécrétion d'insuline par les ilots de la descendance issue de mères sédentaires (CT) ou entraînées (TR), âgée de 7 mois après incubation en bas glucose (2,8 mM G) puis en haut glucose (16,7 mM G). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=9 à 10).

A l'âge de 7 mois, la sécrétion d'insuline par les ilots était significativement plus élevée en conditions haut glucose (16,7 mM) par rapport à la condition bas glucose (2,8 mM) ($P < 0,05$) (Figure 34.). Toutefois, la sécrétion d'insuline par les ilots des animaux du groupe TR tendait à être plus faible que celle des ilots des animaux du groupe CT en conditions bas glucose (2,8 mM) ($P = 0,102$), sans que cela ne soit significatif en conditions haut glucose (16,7 mM) ($P = 0,255$) (Figure 34.).

I.1.3.7. Expression des protéines et activité des enzymes des métabolismes glucidique et lipidique

I.1.3.7.1. La citrate synthase (CS) dans le foie et dans le muscle

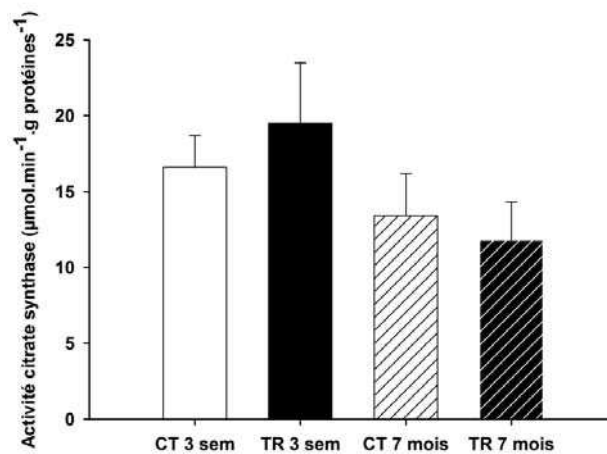


Figure 35. Activité de la citrate synthase dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

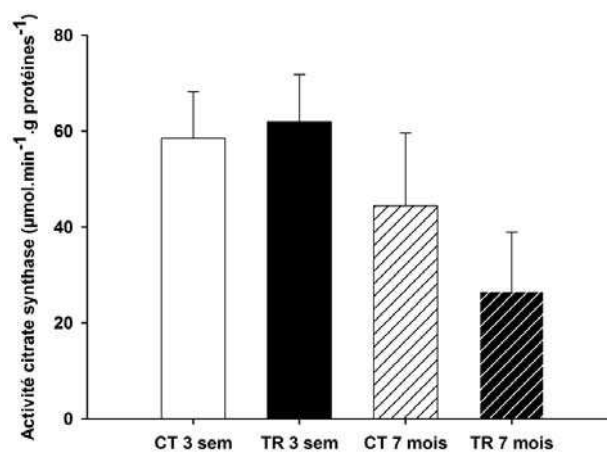


Figure 36. Activité de la citrate synthase dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

L'activité de la CS n'était pas significativement différente entre les rats nés de mères entraînées (TR) et contrôles (CT), que ce soit à 3 semaines ou à 7 mois, dans le foie (Figure 35.) comme dans le muscle (Figure 36.).

I.1.3.7.2. La PhosphoEnolPyruvateCarboxyKinase (PEPCK) dans le foie

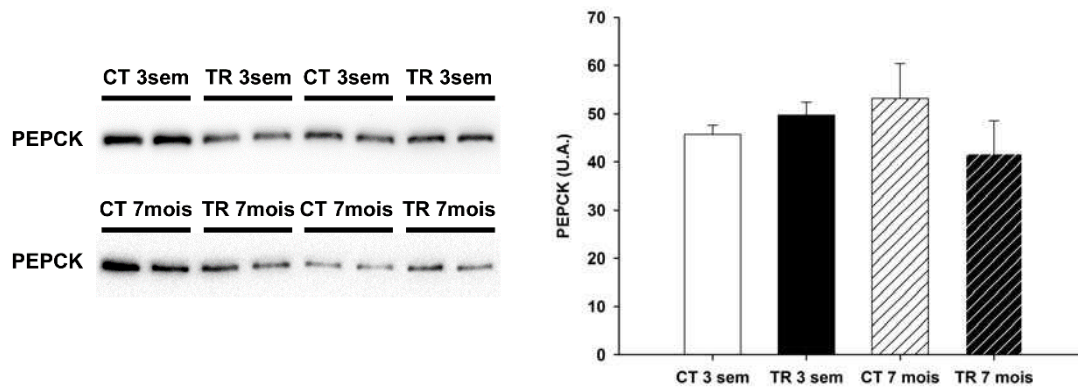


Figure 37. Contenu protéique de la PEPCK dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois mesuré par western blot (à gauche) et exprimé en unités arbitraires (U.A.) (à droite). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8).

L'expression protéique de la PEPCK n'était pas différente entre les rats issus de mères entraînées (TR) et contrôles (CT), que ce soit à l'âge de 3 semaines ou 7 mois (Figure 37.).

I.1.3.7.3. L'Acétyl-Co-enzyme A Carboxylase (ACC) dans le foie

Chez les rats âgés de 3 semaines, le rapport pACC/ACC était significativement plus élevé chez la descendance issue de rates entraînées (TR) par rapport à celle issue de rates contrôles (CT) ($0,85 \pm 0,11$ vs. $0,53 \pm 0,05$, $P < 0,05$) (Figure 38.).

Chez la descendance âgée de 7 mois, le rapport pACC/ACC tendait à être plus élevé chez les rats issus de mères entraînées (TR) par rapport aux animaux issus de mères

contrôles (CT), sans que cette différence atteigne le seuil de significativité ($0,87 \pm 0,12$ vs. $0,61 \pm 0,05$, $P=0,074$) (Figure 38.).

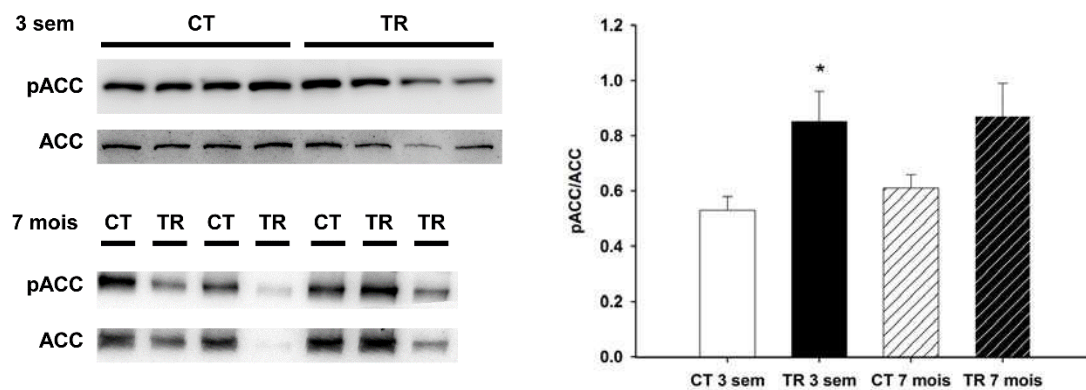


Figure 38. Western blot représentant le contenu en ACC totale et sa forme phosphorylée (pACC) à gauche et son niveau d'activation estimé par le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale (pACC/ACC) à droite dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8). * : $P < 0,05$ vs. CT 3 sem.

I.1.3.7.4. La Fatty Acid Synthase (FAS) dans le foie

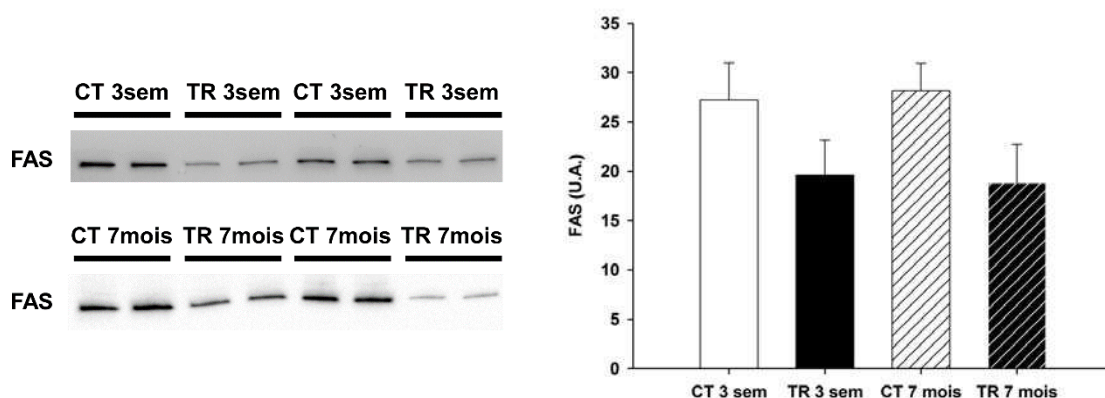


Figure 39. Contenu protéique de la FAS dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois mesuré par western blot (à gauche) et exprimé en unités arbitraires (U.A.) (à droite). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8).

L'expression de la FAS n'était pas significativement différente entre les animaux des deux groupes, que ce soit au sevrage ou à 7 mois. Toutefois, elle tendait à être plus faible chez la descendance de rates entraînées (TR) comparée à celle de rates contrôles (CT) ($P=0,162$ à 3 semaines et $P=0,078$ à 7 mois) (Figure 39.).

I.1.3.7.5. La 3-hydroxyacyl-Coenzyme A déshydrogénase (HAD) dans le foie et dans le muscle

L'activité de la HAD n'était pas différente entre les rats de 3 semaines issus de mères entraînées et contrôles, que ce soit dans le muscle ou dans le foie. A 7 mois, l'activité de la HAD n'était pas différente entre les rats des deux groupes dans le muscle mais tendait à être réduite chez la descendance issue de mères entraînées dans le foie ($P=0,113$) (Figures 40. et 41.).

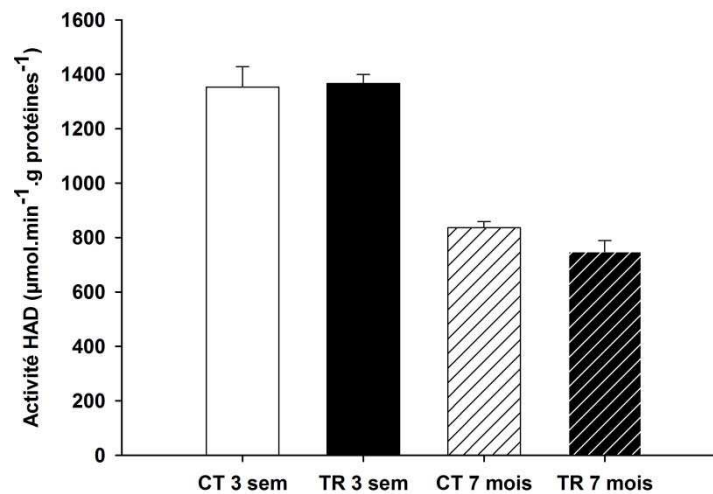


Figure 40. Activité de la HAD dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

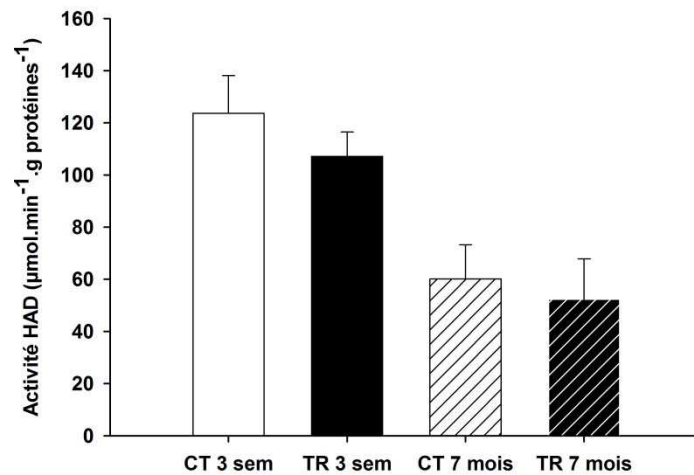


Figure 41. Activité de la HAD dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

I.1.3.7.6. L'énolase dans le foie et dans le muscle

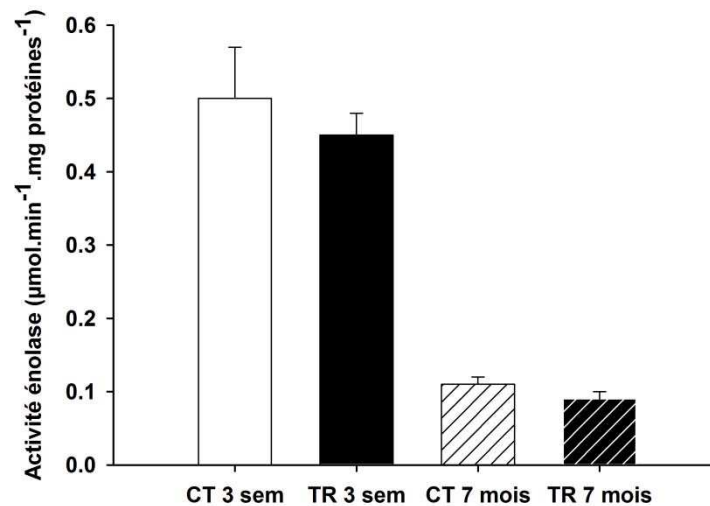


Figure 42. Activité de l'énolase dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8).

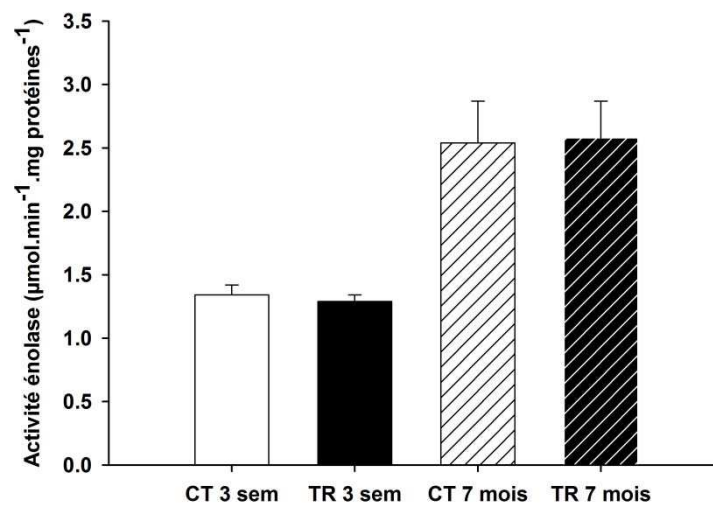


Figure 43. Activité de l'énolase dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8).

L'activité de l'énolase était similaire entre les animaux des deux groupes, que ce soit à l'âge de 3 semaines ou 7 mois et quel que soit le tissu étudié (foie ou muscle) (Figures 42. et 43.).

I.1.3.7.7. La Glycogène Synthase Kinase 3 (GSK3) dans le foie et dans le muscle

A l'âge de 3 semaines, le rapport pGSK3/GSK3 était significativement plus faible chez les rats nés de mères entraînées (TR) par rapport à ceux nés de mères contrôles (CT) ($0,38 \pm 0,05$ vs. $0,69 \pm 0,09$, $P < 0,05$) (Figure 44.).

Au contraire, à l'âge de 7 mois, le rapport pGSK3/GSK3 était significativement plus élevé chez la descendance issue de rates entraînées par rapport à celle issue de rates contrôles ($2,28 \pm 0,27$ vs. $1,47 \pm 0,16$, $P < 0,05$) (Figure 44.).

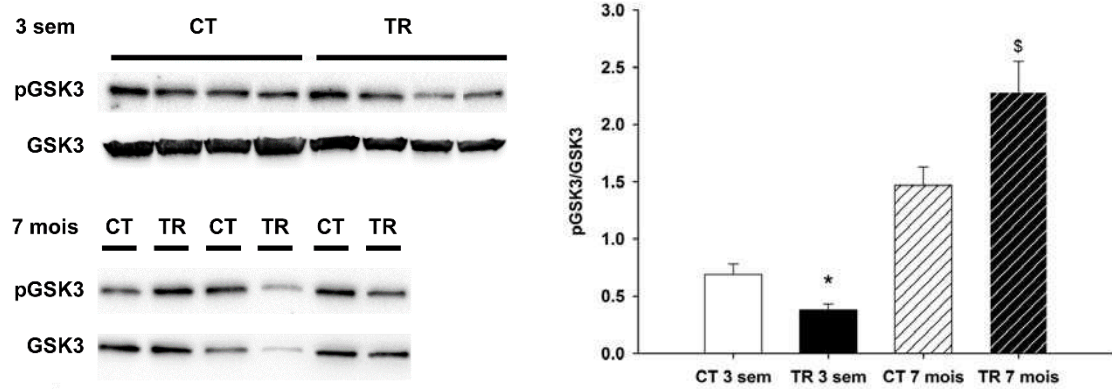


Figure 44. Western blot représentant le contenu en GSK3 totale et sa forme phosphorylée (pGSK3) à gauche et son niveau d'activation estimé par le ratio de la forme phosphorylée sur la forme totale à droite dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8). * : $P < 0,05$ vs. CT 3 sem, \$: $P < 0,05$ vs. CT 7 mois.

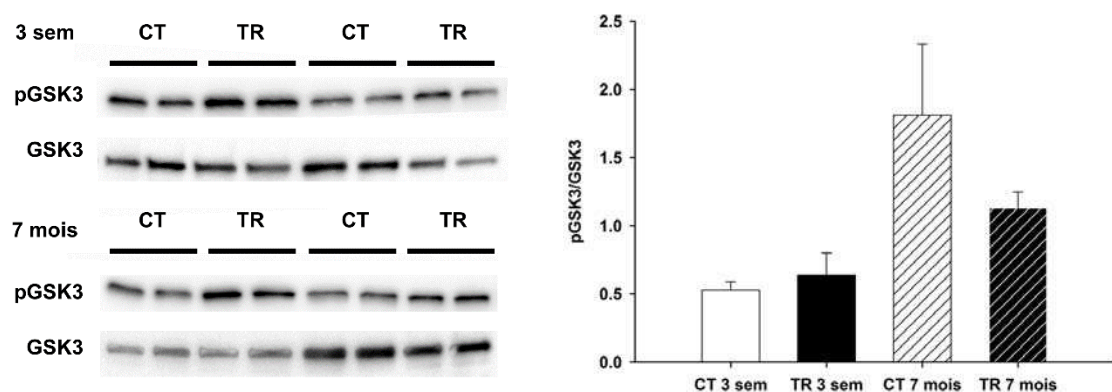


Figure 45. Western blot représentant le contenu en GSK3 totale et de sa forme phosphorylée (pGSK3) à gauche et son niveau d'activation estimé par le ratio de la forme phosphorylée sur la forme totale à droite dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8).

L'entraînement maternel n'a pas modifié le rapport pGSK3/GSK3 dans le muscle de la descendance, que ce soit à l'âge de 3 semaines ou à l'âge de 7 mois (Figure 45.).

I.1.3.8. Concentration en glycogène hépatique

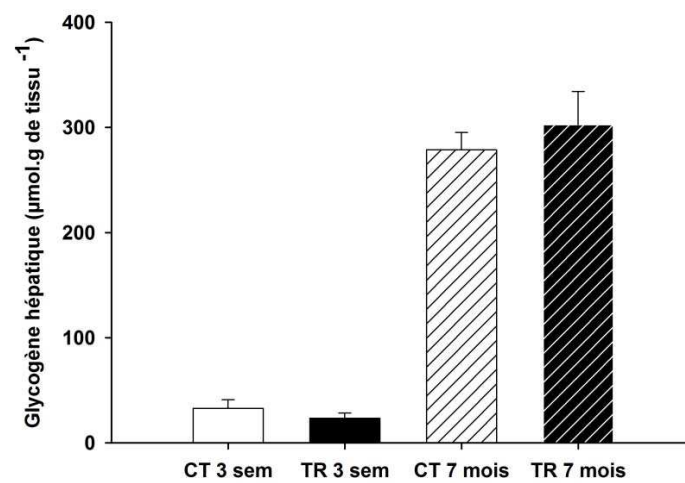


Figure 46. Contenu en glycogène dans le foie de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

L'entraînement maternel n'a pas modifié la concentration en glycogène hépatique de la descendance, que ce soit au sevrage ou à 7 mois (Figure 46.).

I.2. Discussion ETUDE 1 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la gestation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance

L'objectif de ce travail était d'étudier les effets de l'entraînement maternel sous-maximal durant la gestation sur la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance et ce, à court et à long terme. Pour cela, nous avons entraîné des rates sur tapis roulant avant et pendant la gestation et avons étudié la descendance mâle au sevrage et à l'âge de 7 mois.

Selon nous, c'est la première fois qu'une équipe démontre que l'exercice maternel sous-maximal durant la gestation modifie la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance à plus ou moins long terme.

Notre but était de tester l'effet d'un exercice chronique quotidien durant la gestation chez des femelles déjà actives avant la gestation. Nous avons donc choisi de les entraîner durant 4 semaines avant la mise en reproduction car cette durée est généralement suffisante pour obtenir les premiers signes d'adaptation à l'exercice en endurance (Wisloff et al. 2001). Les études s'étant intéressées à l'exercice volontaire des rongeurs sur roue d'activité ont montré que la distance de course diminuait de façon très importante durant la dernière semaine de gestation (Carter, Lewis et al. 2012; Eclarinal et al. 2016). Nous avons donc choisi d'entraîner les femelles sur tapis roulant, ce qui nous a permis de contrôler parfaitement l'intensité et la durée d'entraînement avant et pendant toute la durée de la gestation. Ainsi, à l'inverse des études utilisant une roue d'activité comme méthode d'entraînement, nous n'avons pas eu de réduction d'intensité et de durée de l'entraînement jusqu'au dix-huitième jour de la gestation. Pour s'assurer que les adaptations à l'exercice soient suffisantes, nous avons choisi une intensité d'exercice suffisamment élevée, sur la base de paramètres classiquement utilisés dans la littérature (Bedford et al. 1979; Lahaye Sle et al. 2010; Zguira et al. 2013). A partir de données obtenues dans notre laboratoire, il apparaît que la vitesse et la pente du tapis roulant choisies correspondent à une intensité d'environ 55 % de la Vitesse Maximale Aérobie (VMA). Cette intensité est en adéquation avec les recommandations d'exercice physique chez la femme enceinte dans de nombreux pays à travers le monde (Evenson,

Barakat et al. 2014). Toutefois, la fréquence et la durée sont supérieures à la plupart des recommandations, excepté celles du Danemark et des Etats-Unis qui recommandent au moins 30 minutes d'exercice à intensité modérée la plupart des jours ou tous les jours (Evenson, Barakat et al. 2014).

Certains auteurs rapportent que l'exercice volontaire contrôlé de faible intensité durant la gestation n'a pas de conséquences négatives sur les mères et les portées (Carter, Qi et al. 2013; Platt, Charnigo et al. 2013). Notre protocole d'entraînement forcé ne semble pas non plus avoir entraîné de perturbations néfastes chez les mères et les portées. En effet, le nombre de portées menées à terme, le nombre de petits par portée, le poids des petits à la naissance ou encore le sexe ratio des portées n'ont pas été modifiés par l'entraînement des mères. Or, chez la rate, il n'est pas rare de voir qu'un stress, au sens large du terme, trop important durant la gestation, soit associé à des fausses couches, à des portées réduites, à un faible poids de naissance des petits ou encore à des actes de cannibalisme des mères (Vanheest and Rodgers 1997; Perez-Laso et al. 2008), ce qui n'est pas le cas dans notre protocole. L'exercice n'a également pas d'effet sur le poids corporel des mères mais semble modifier leur composition corporelle. En effet, le poids de la somme des tissus adipeux urogénital, rétropéritonéal et mésentérique est plus faible chez les rates du groupe TR par rapport aux rates du groupe CT (-27 %). Une telle réduction de la masse adipeuse après un entraînement en endurance a déjà été rapportée chez des rats mâles et femelles, à un niveau similaire au nôtre pour les femelles (-30 %) (Yoshihara et al. 2006; Gutkowska et al. 2007). Cela est peut-être dû au fait que la dépense énergétique est supérieure chez les rates TR alors que la consommation de nourriture est similaire à celle des rates CT (voir Etude 2), ce qui a pu réduire la balance énergétique chez les rates entraînées. Chez la descendance, l'exercice maternel n'a pas d'effet sur le poids corporel et la composition corporelle (estimée par la masse musculaire et la masse grasse mesurées). Ce résultat est surprenant par rapport aux données de la littérature qui rapportent en général une réduction du poids et de la masse grasse de la descendance (Clapp and Capeless 1990; Clapp 1996; Hopkins, Baldi et al. 2010; Stanford, Lee et al. 2015). Cela peut être expliqué par la durée des sessions d'entraînement (1h par jour), qui est plus courte que lorsque les animaux pratiquent un exercice volontaire sur roue d'activité tout au long de la journée, et par la distance parcourue (1,5 km par jour dans notre étude contre 1,5 à 8 km par jour en début de gestation et 1 km par jour en fin de gestation pour un exercice sur roue d'activité)

(Carter, Qi et al. 2013; Camarillo et al. 2014; Raipuria, Bahari et al. 2015; Eclarinal, Zhu et al. 2016). La réduction de la balance énergétique chez les rates entraînées (même consommation de nourriture que les rates CT malgré l'entraînement) apparaît donc comme n'ayant pas de conséquences négatives sur la croissance des petits, à en juger par le poids corporel de la descendance qui est similaire entre les ratons des deux groupes. Cela peut être dû au fait que l'entraînement physique maternel est connu pour augmenter le débit sanguin au niveau du placenta durant les phases de repos (Clapp 2006) et donc l'apport en nutriment à l'interface placentaire maternelle. Durant la grossesse, les niveaux de glycémie post-prandiaux vont varier en fonction du type de glucides ingérés. Dans notre étude, la nourriture était principalement composée de glucides à faible indice glycémique, qui sont associés à une stabilité de la glycémie au cours de la grossesse et à une descendance de taille normale, contrairement à une ingestion de glucides à haut indice glycémique (Clapp 2006). Toutefois, notre programme d'entraînement maternel a réduit le poids du pancréas des ratons au sevrage sans modifier son contenu en insuline. De plus, les coupes histologiques de pancréas ont montré une réduction de l'aire des ilots de la descendance des mères entraînées. Afin de voir si cette modification était accompagnée de changements fonctionnels, nous avons ensuite évalué la capacité sécrétoire des ilots pancréatiques de la descendance dans diverses conditions. Au sevrage, la sécrétion d'insuline basale des ilots (en condition bas glucose) et en conditions stimulées (haut glucose) n'ont pas été affectées par l'exercice maternel. Ces résultats sont peut-être dus au fait que la sécrétion d'insuline par les ilots en réponse au glucose est réduite chez les jeunes rats (Bliss and Sharp 1992; Boschero et al. 1992; King 2006; Navarro-Tableros et al. 2007). Pour s'affranchir de ce problème, nous avons donc mesuré la sécrétion d'insuline après une incubation en bas glucose additionné d'arginine, un sécrétagogue connu pour être efficace chez les ilots de rats fœtaux et jeunes (Ammon, Glocker et al. 1989). Dans de telles conditions, nous avons montré que la sécrétion d'insuline par les ilots était augmentée chez la descendance de mères entraînées. Cela est cohérent avec la littérature. En effet, une étude a montré que les petits ilots sécrétaient plus d'insuline que les gros ilots (Huang et al. 2011). Ces changements d'insulino-sécrétion par les ilots des ratons du groupe TR pourraient être à l'origine de la tendance à avoir une insulïnémie plus élevée après 6h de jeûne chez ces animaux. L'insuline a un impact sur le contenu en certaines protéines et l'activité de certaines enzymes au niveau hépatique et musculaire. Ainsi, le signal insulinique active la FAS et donc la lipogénèse hépatique. Cependant, malgré une tendance à

l'augmentation de l'insulinémie chez les rats du groupe TR, le contenu en FAS dans le foie de ces animaux tend à être diminué par rapport à ceux du groupe CT. L'entraînement maternel limiterait donc la synthèse d'acides gras au niveau du foie de la descendance et ce, malgré une insulinémie légèrement augmentée par rapport à la descendance de mères sédentaires. Malheureusement, nous n'avons pas mesuré la quantité de triglycérides dans le foie de nos animaux afin de confirmer cela. Une étude a toutefois montré que l'exercice maternel volontaire pendant la gestation avait un effet protecteur sur le développement d'une stéatose hépatique chez la descendance (Sheldon, Nicole Blaize et al. 2016). L'insuline va aussi agir sur ACC, une protéine régulatrice de la lipolyse. En présence d'insuline, ACC est non phosphorylée, donc active. La lipogénèse hépatique est alors stimulée. Or, dans notre étude, l'insulinémie tend à être augmentée chez les rats du groupe TR alors que le rapport pACC/ACC dans le foie est lui aussi augmenté. Ainsi, comme pour la FAS, l'entraînement maternel réduirait la lipogénèse et augmenterait la lipolyse de la descendance au niveau hépatique, et ce, malgré une tendance à l'augmentation de l'insulinémie chez celle-ci. L'entraînement maternel pourrait donc agir sur d'autres protéines régulatrices de ACC, comme l'AMPK ou mTOR (Mihaylova and Shaw 2011). Nous avons également noté une augmentation du rapport pPKB/PKB en conditions basales dans le muscle et le foie des rats du groupe TR qui pourrait être due à une légère augmentation de l'insulinémie par rapport à ceux du groupe CT. La pPKB est connue phosphoryler la GSK3, ce qui va stimuler la synthèse de glycogène. Dans notre cas, l'augmentation du rapport pPKB/PKB dans le foie des rats du groupe TR est de manière surprenante associée à une réduction du rapport pGSK3/GSK3 hépatique. Toutefois, cela n'a pas entraîné de modification de la concentration en glycogène dans le foie. Il serait donc intéressant de voir si l'entraînement maternel aurait pu agir à un autre niveau de la synthèse de glycogène, par exemple sur l'activité de la GS.

La tendance à l'augmentation de l'insulinémie sans hyperglycémie chez les petits de mères entraînées pourrait être le marqueur précoce d'une insulino-résistance. Afin de vérifier cela, nous avons réalisé des tests de tolérance au glucose (ipGTT) et à l'insuline (ipITT) sur nos animaux. Les résultats montrent que l'élimination du glucose sanguin (attestée par l'aire sous la courbe durant l'ipGTT) et la sensibilité à l'insuline globale (attestée par l'aire sur la courbe durant l'ipITT) n'étaient pas affectées par l'entraînement maternel. Tous ces résultats suggèrent que, malgré la tendance à avoir une insulinémie

plus élevée, les rats du groupe TR ne seraient pas insulino-résistants. Cette tendance à l'augmentation de l'insulinémie pourrait également être le signe d'une altération de la signalisation de l'insuline. Les principaux tissus insulino-sensibles sont le muscle squelettique, le foie et le tissu adipeux (Newsholme et al. 2014). La PKB (Cho et al. 2001) et le ratio entre sa forme phosphorylée et son contenu total (pPKB/PKB) sont classiquement considérés comme de bons marqueurs de l'activation de la voie de signalisation de l'insuline (Vial et al. 2015; Xu et al. 2015). Nous avons donc examiné les rapports pPKB/PKB dans le muscle gastrocnémien et le foie de la descendance, en conditions basales et après une charge en insuline. En conditions basales, l'augmentation du rapport pPKB/PKB mesurée dans les deux tissus chez la descendance âgée de 3 semaines issue de rates entraînées est probablement due à la tendance à l'augmentation de l'insulinémie chez ces rats, comme évoqué précédemment. Les résultats obtenus après une charge en insuline confirment cette hypothèse car le rapport pPKB/PKB n'est pas différent entre les petits des deux groupes dans cette condition stimulée par l'insuline. L'exercice maternel n'a donc pas modifié l'activation de la voie de signalisation de l'insuline de la descendance, que ce soit dans le foie ou le muscle squelettique.

Ces effets de l'exercice maternel sur la descendance sont dépendants de l'âge car les résultats obtenus chez les animaux âgés de 7 mois sont différents de ceux obtenus à l'âge de 3 semaines. En effet, à l'âge de 7 mois, les poids des organes ne sont pas différents entre les deux groupes, suggérant que l'entraînement maternel n'aurait pas d'impact significatif sur la composition corporelle, y compris sur le pancréas. Toutefois, la masse grasse relative tend à être plus élevée ($P=0,153$) et la masse musculaire relative plus faible ($P=0,183$) chez les rats du groupe TR, suggérant que ceux-ci pourraient avoir un pourcentage de masse grasse plus élevé que les rats du groupe CT. Dans une étude similaire (étude 2), nous avons mesuré la consommation de nourriture des animaux durant les dix semaines suivant le sevrage (i.e. jusqu'à l'âge de 3 mois) et nous n'avons pas noté de différence entre les deux groupes jusqu'à cet âge. Malheureusement, nous n'avons aucune donnée concernant la prise alimentaire des animaux entre 3 mois et 7 mois. Nous ne pouvons donc pas exclure que celle-ci soit devenue différente durant cette période, ce qui pourrait expliquer la tendance à l'augmentation de la masse grasse chez les rats du groupe TR à l'âge de 7 mois. Cela peut également être la conséquence d'une impossibilité à effectuer leur activité physique spontanée, entraînant une balance

énergétique positive. En effet, une étude a montré que la descendance de femelles, qui avaient eu accès à des roues d'activité durant la gestation, était plus active à l'âge adulte (Eclarinal, Zhu et al. 2016). Cela suggère que la propension à faire de l'exercice physique pourrait dépendre du niveau d'activité physique de la mère durant la gestation (Eclarinal, Zhu et al. 2016). Dans notre étude, la descendance de mères actives n'a pas pu exercer cette activité spontanée potentiellement supérieure mais a été nourrie *ad libitum*. Ces conditions ont pu être propices à l'augmentation de l'adiposité chez ces animaux. Cette augmentation de l'adiposité pourrait également résulter d'une réduction de la capacité à oxyder les lipides. Un des facteurs conditionnant l'oxydation des acides gras est la densité mitochondriale. Nous l'avons mesuré par l'activité de la CS et nous n'avons pas noté de différences entre les animaux âgés de 7 mois, que ce soit dans le muscle ou dans le foie. Cela suggère que l'entraînement maternel n'a pas modifié le contenu musculaire et hépatique en mitochondries. Cela est en accord avec une étude récente qui a montré que l'entraînement maternel volontaire n'était pas associé à une modification de l'activité de la CS de la descendance âgée de 8 mois, malgré une augmentation des marqueurs de biogénèse mitochondriale PGC-1 α et TFAM dans le foie, suggérant une augmentation du turnover mitochondrial (Sheldon, Nicole Blaize et al. 2016). Si l'entraînement maternel ne semble pas modifier l'activité de la CS, il est associé à une tendance à la réduction de la β -oxydation, estimée par l'activité de la HAD, dans le foie de la descendance âgée de 7 mois. Cette réduction de la capacité à oxyder les AG dans le foie chez les rats du groupe TR pourrait être confirmée en mesurant le contenu en triglycérides hépatiques. Cela permettrait également de confronter ces résultats avec ceux obtenus sur la FAS, dont le contenu hépatique tend à être réduit chez la descendance de mères TR, suggérant une réduction de la synthèse des AG dans le foie de ces animaux.

La glycémie après 6h et 16h de jeûne n'était pas différente entre les deux groupes bien que l'insulinémie à 6h de jeûne tendait à être augmentée chez les rats issus de mères entraînées âgés de 7 mois. De plus, l'augmentation de l'aire sous la courbe durant l'ipGTT chez les animaux du groupe TR suggère que l'exercice maternel est associé à une altération de la tolérance au glucose de la descendance à l'âge adulte. Ainsi, nous montrons que l'exercice maternel va avoir des conséquences variées sur la future tolérance au glucose de la descendance, qui vont dépendre de l'intensité de l'exercice maternel mais également du sexe et de l'âge de la descendance. En effet, notre

programme d'exercice sous-maximal forcé entraîne une réduction de la tolérance au glucose de la descendance adulte alors que d'autres études ont montré que l'exercice maternel volontaire de faible intensité l'améliorait (Carter, Lewis et al. 2012; Carter, Qi et al. 2013). Ces différences peuvent être expliquées par de nombreux facteurs. Tout d'abord, ces études ont été réalisées sur des souris (Carter, Lewis et al. 2012) ou sur des rats Sprague-Dawley (Carter, Qi et al. 2013). De plus, les femelles avaient accès à des roues d'activité avant et durant toute la durée de la gestation et pendant la lactation. Dans notre étude, nous avons utilisé des rats Wistar âgés de 7 mois. De plus, nous avons utilisé uniquement la descendance mâle et l'exercice maternel sur tapis roulant était forcé et suivi uniquement avant et pendant la gestation, sans modification des paramètres d'exercice.

La diminution de la tolérance au glucose observée chez les animaux du groupe TR à l'âge de 7 mois peut être due à un essoufflement de la sécrétion d'insuline par les ilots ou à une insulino-résistance (Triplitt et al. 2000). Même si le contenu total en insuline dans le pancréas était similaire entre les deux groupes, le fait que la sécrétion d'insuline par les ilots tende à être plus faible chez les rats issus de mères entraînées âgés de 7 mois peut jouer un rôle dans l'intolérance au glucose observée chez ces animaux. Cette intolérance au glucose n'est probablement pas d'origine hépatique. En effet, les rapports pPKB/PKB dans le foie sont similaires entre les deux groupes, que ce soit en condition basale ou en condition stimulée par l'insuline. Toutefois, la réduction du rapport pPKB/PKB dans le muscle des animaux du groupe TR en conditions stimulées par l'insuline suggère que l'entraînement maternel avant et pendant la gestation pourrait altérer la signalisation de l'insuline musculaire de la descendance. Il apparaît cependant que cette réduction de l'activation de la voie de signalisation de l'insuline dans le muscle n'a pas de conséquences sur la réponse globale à l'insuline de la descendance des mères entraînées. En effet, l'aire sur la courbe durant le test ipITT est similaire entre les animaux des deux groupes. Malgré un rapport pPKB/PKB dans le foie similaire entre les deux groupes, le rapport pGSK3/GSK3 hépatique est significativement augmenté chez les animaux du groupe TR par rapport à ceux du groupe CT, suggérant une augmentation de la synthèse de glycogène. Toutefois, cela n'a pas été confirmé par le dosage du glycogène hépatique qui n'est pas différent entre les deux groupes.

La réduction du poids relatif du pancréas et de la taille des ilots chez les rats du groupe TR au sevrage pourrait être le résultat d'un statut nutritionnel sous-optimal de la

mère et du fœtus. En effet, malgré l'augmentation de la dépense énergétique durant les phases d'exercice, les rates entraînées ont une consommation de nourriture similaire à celle des rates sédentaires (voir Etude 2). Cela supporterait l'idée que la descendance des rates TR aurait pu être confrontée à une réduction de l'approvisionnement en substrats durant les phases d'exercice maternel. En effet, il a été montré qu'une hypoglycémie fœtale pouvait survenir durant les sessions d'exercice maternel (Clapp 2003). Ces deux facteurs (réduction de la balance énergétique de la mère et hypoglycémie fœtale) pourraient modifier la structure et la fonction du pancréas des petits issus de mères entraînées (Reusens et al. 2011).

Notre étude montre donc que l'exercice maternel sous-maximal entraîne une sécrétion d'insuline par les ilots de la descendance inadaptée à la glycémie ambiante ainsi qu'une modification de la gestion des substrats énergétiques glucidiques et lipidiques. Celles-ci sont associées à une réduction de l'activation de la voie de signalisation de l'insuline dans le muscle et à une intolérance au glucose de la descendance âgée de 7 mois. Un tel exercice maternel pourrait donc augmenter la susceptibilité au diabète de type 2 de la descendance, et plus particulièrement en cas de mauvaise nutrition ou de sédentarité à l'âge adulte. Cela suggère que la pratique d'un exercice physique quotidien en fin de gestation pourrait être délétère pour la descendance mais d'autres études sont nécessaires afin de déterminer si l'intensité d'un tel exercice peut également jouer un rôle.

II. Etude 2 :

Effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et la gestion des substrats énergétiques de la descendance soumise à un régime gras et sucré

II.1. Résultats ETUDE 2 : Effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et la gestion des substrats énergétiques de la descendance soumise à un régime gras et sucré

II.1.1. Caractéristiques des mères

Tableau 20. Poids corporel, prise alimentaire (PA) et poids relatif des organes des mères après la lactation

	CT	TR
Poids avant l'étude (g)	196±7	199±9
Poids avant la gestation (g)	250±8	250±6
Poids après la lactation (g)	262±9	255±6
PA avant la gestation (g/jour)	18,4±0,5	18,4±0,4
PA fin de la gestation (g/jour)	23,0±1,3	20,7±0,7
PA fin de la lactation (g/jour)	70,3±1,5	73,0±1,4
Pancréas (g.kg ⁻¹)	4,45±0,62	4,80±0,63
Foie (g.kg ⁻¹)	25,27±0,37	27,11±1,16
Rein (g.kg ⁻¹)	3,76±0,10	3,56±0,12
Tissu adipeux (g.kg ⁻¹)	35,02±2,91	30,85±2,00
Muscles (g.kg ⁻¹)	7,52±0,25	7,33±0,25

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=10 pour CT et n=8 pour TR). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétro-péritonéal, urogénital et mésentérique. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire. Les masses des différents organes ont été rapportées par kg de poids corporel.

Le poids corporel des rates entraînées (TR) et contrôles (CT) était similaire au début de l'étude, après les 4 premières semaines d'entraînement et après l'allaitement. La prise alimentaire n'était pas différente entre les mères de chaque groupe, du début du protocole jusqu'à la fin de la lactation. L'entraînement des rates n'a pas affecté le poids relatif des organes tels que le pancréas, le foie, le rein, les tissus adipeux rétropéritonéal, urogénital et mésentérique ou les muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire (Tableau 20.).

II.1.2. Caractéristiques des portées

Tableau 21. Caractéristiques des portées

	CT	TR
Taille de la portée	11,4±0,9	13,1±0,6
Nombre de mâles	5,1±0,5	6,8±0,7
Nombre de femelles	6,3±0,7	6,3±0,5
Poids corporel J7 (g)	16,4±0,5	13,9±0,5*
Poids corporel J14 (g)	33,5±0,9	31,0±1,0
Poids corporel J21 (g)	53,5±1,3	49,0±1,5*

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 pour CT et n=9 pour TR). Le poids corporel moyen est calculé en divisant le poids de la portée par le nombre de rats mâles et/ou femelles dans la portée. * : $P < 0,05$ vs. CT.

Le nombre total de petits ainsi que le nombre de mâles et de femelles par portée n'étaient pas différents entre les groupes TR et CT. Toutefois, le nombre total de rats et le nombre de mâles par portée tendaient à être plus élevés dans le groupe TR par rapport au groupe CT ($P=0,138$ et $P=0,057$, respectivement). Le poids des rats du groupe TR était significativement plus faible à l'âge de 7 et 21 jours par rapport à celui des rats du groupe CT et tendait à être plus faible à l'âge de 14 jours ($P=0,087$) (Tableau 21.).

II.1.3. Caractéristiques de la descendance

II.1.3.1. Prise alimentaire

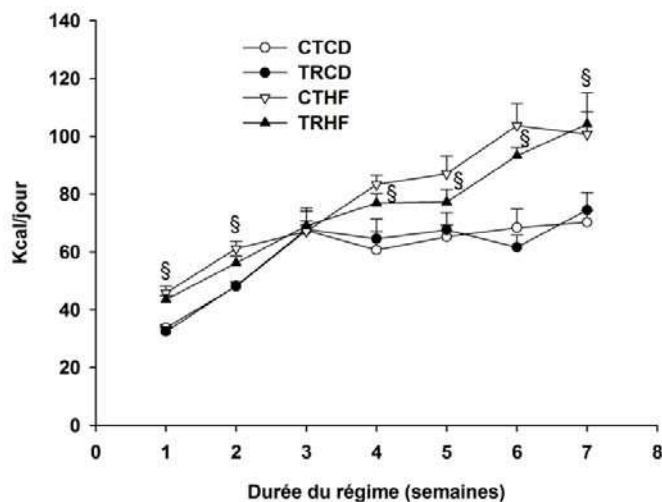


Figure 47. Effets de l'entraînement de la mère et du régime HF sur l'évolution de la consommation calorifique de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=4 à 9). § : $P < 0,05$ vs. CD (CTCD+TRCD).

II.1.3.2. Poids corporel et poids des organes

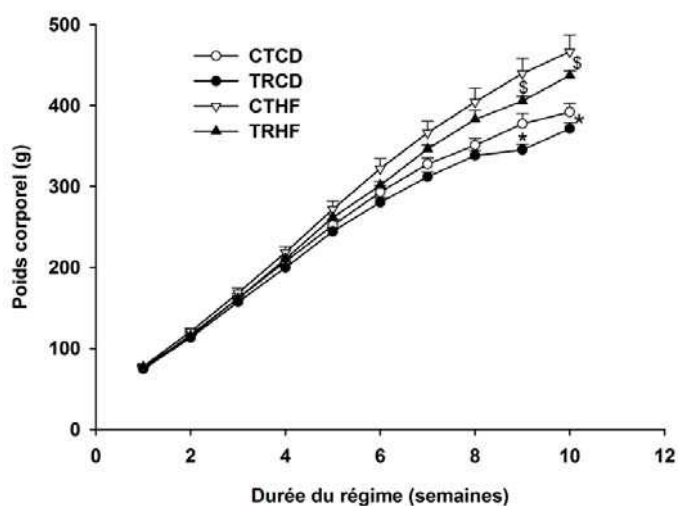


Figure 48. Effets de l'entraînement de la mère et du régime HF sur l'évolution du poids corporel de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=25 à 32). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, § : $P < 0,05$ vs. CTHF.

La consommation calorique des animaux HF était significativement plus élevée que celle des animaux CD durant les huit premières semaines de régime, sauf durant la troisième semaine où elle était similaire (Figure 47.)

Au cours des 10 semaines de régime, les animaux HF avaient pris plus de poids que ceux soumis au régime CD. Par ailleurs, la prise de poids était plus importante pour les animaux issus de mères CT par rapport à ceux issus de mères TR à partir de la neuvième semaine (+ 5 à 9 %, $P<0,05$) et ce, quel que soit le type de régime (Figure 48.).

En raison d'une prise de poids essentiellement liée à une prise de masse grasse pour les animaux soumis au régime HF, qui pourrait biaiser les valeurs de poids relatif des organes, les poids des organes de la descendance ont été exprimés pour cette étude de manière absolue (Tableau 22.).

Tableau 22. Poids corporel et des organes

	CD		HF	
	CT	TR	CT	TR
Poids corporel (g)	413±9	405±8	504±14 *#	471±8 *#
Poids des organes (g)				
Foie	13,23±0,46	12,93±0,35	14,78±0,37 *#	15,06±0,34 *#
Rein	1,20±0,03	1,19±0,02	1,24±0,04	1,22±0,02
Tissu adipeux	13,79±0,68	13,85±0,76	37,71±2,18 *#	30,03±1,41 *#
Muscles	2,28±0,05	2,18±0,05	2,15±0,05	2,15±0,03
Pancréas	1,42±0,05	1,36±0,06	1,24±0,09	1,29±0,05

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=24). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétro-péritonéal, épидидymal et mésentérique. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire.
* : $P<0,05$ vs. CTCD, # : $P<0,05$ vs. TRCD, \$: $P<0,05$ vs. CTHF.

Le poids du rein, des muscles et du pancréas n'a été affecté ni par l'entraînement maternel ni par les 10 semaines de régime HF. Toutefois, le régime HF a entraîné une augmentation significative du poids du foie. Les rats soumis au régime HF présentaient également une augmentation significative de la masse des tissus adipeux mesurés par rapport aux rats nourris avec le régime CD. Par ailleurs, l'entraînement maternel est associé à une réduction de prise de masse grasse chez la descendance soumise au régime HF (Tableau 22.).

II.1.3.3. Paramètres sanguins

II.1.3.3.1. Glycémie

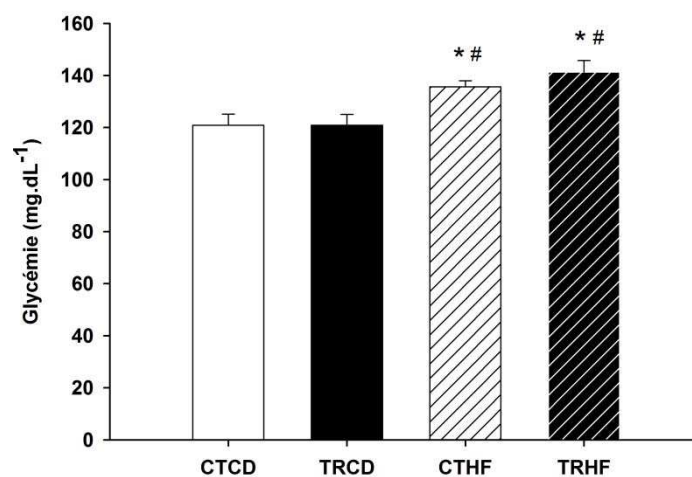


Figure 49. Effets de l'entraînement de la mère et de 10 semaines de régime HF sur la glycémie après 6h de jeûne de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 12). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, # : $P < 0,05$ vs. TRCD.

Après 6h de jeûne, la glycémie des rats soumis au régime HF était significativement plus élevée que celle des rats soumis au régime CD (+ 15 %, $P < 0,05$), indépendamment de l'entraînement des mères (Figure 49.).

Après un jeûne de 16 heures, la glycémie des rats TRHF était significativement plus élevée par rapport à celle des rats CD, qu'ils soient issus de mères CT ou TR (Figure 50.). Pour un même régime (CD ou HF), la glycémie après 16h de jeûne était similaire entre les animaux issus de rates TR ou CT (Figure 50.).

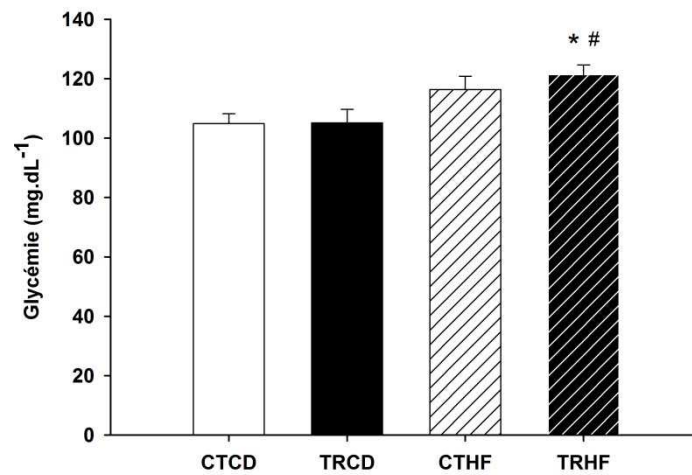


Figure 50. Effets de l'entraînement de la mère et de 10 semaines de régime HF sur la glycémie après 16h de jeûne de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 9). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, # : $P < 0,05$ vs. TRCD.

II.1.3.3.2. Insulinémie

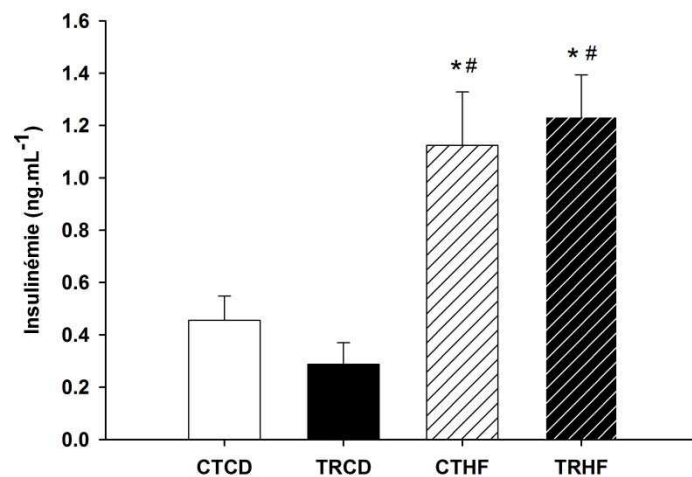


Figure 51. Effets de l'entraînement de la mère et de 10 semaines de régime HF sur l'insulinémie après 16h de jeûne de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, # : $P < 0,05$ vs. TRCD.

L'insulinémie des rats HF était significativement plus élevée que celles des rats CD, qu'ils soient issus de rates TR ou CT (Figure 51.). Pour un même régime (CD ou HF), l'insulinémie après 16h de jeûne était similaire entre les animaux issus de rates TR ou CT (Figure 51.).

II.1.3.4. Tolérance au glucose

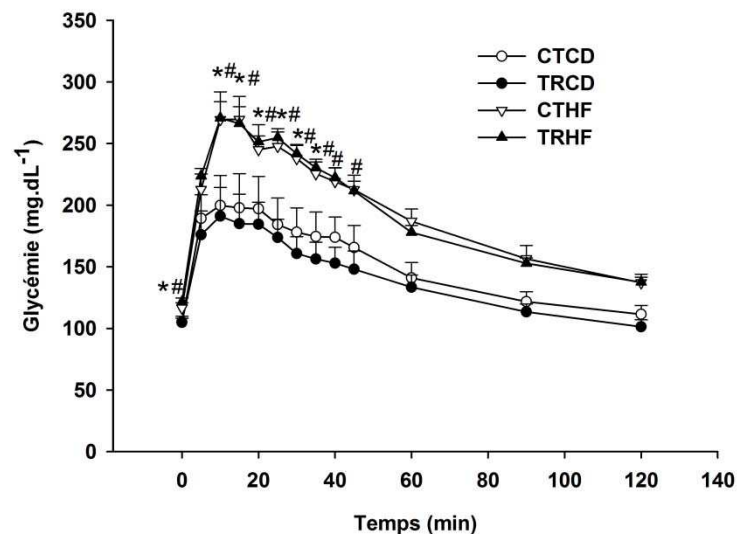


Figure 52. Effet de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la cinétique de la glycémie de la descendance sur 120 min et après 16h de jeûne lors du test ipGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 9). * : $P<0,05$ vs. CTCD, # : $P<0,05$ vs. TRCD.

10 semaines de régime HF semblent altérer la tolérance au glucose des animaux, indépendamment de l'entraînement de la mère. En effet, les niveaux de glucose sanguin des animaux CTHF et TRHF étaient significativement plus élevés que ceux des animaux CTCD et TRCD entre les temps T=10 et T=35 min après l'injection de glucose (Figure 52.). De plus, l'aire sous la courbe était significativement plus élevée chez les animaux CTHF et TRHF comparés aux animaux TRCD, avec une forte tendance par rapport aux animaux CTCD ($P=0,055$ vs. CTHF et $P=0,083$ vs. TRHF) (Figure 53.).

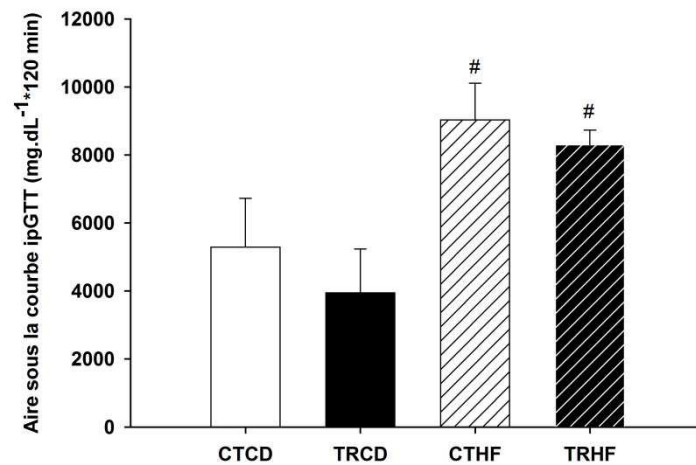


Figure 53. Effet de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la tolérance au glucose de la descendance estimée par l'aire sous la courbe de glycémie obtenue lors du test ipGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 9). # : $P < 0,05$ vs. TRCD.

II.1.3.5. Sensibilité à l'insuline

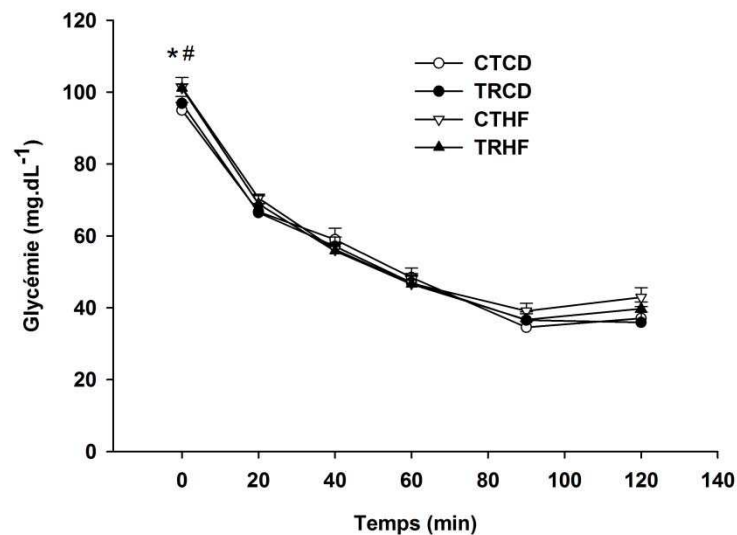


Figure 54. Effet de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la cinétique de la glycémie de la descendance sur 120 min et après 6h de jeûne lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 12). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, # : $P < 0,05$ vs. TRCD.

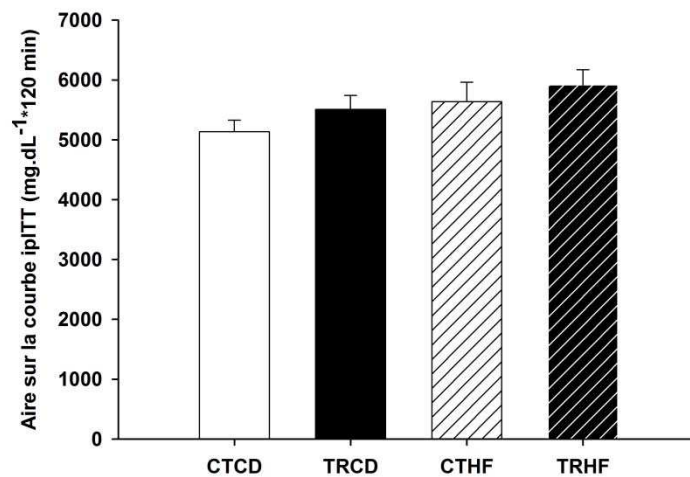


Figure 55. Effet de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la sensibilité à l'insuline de la descendance, estimée par l'aire sur la courbe de glycémie obtenue lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 12).

Ni l'entraînement maternel ni les 10 semaines de régime HF ne semblent modifier la sensibilité à l'insuline de la descendance. En effet, les niveaux de glucose sanguins étaient similaires durant toute la durée du test (Figure 54.). De plus, les aires sur la courbe correspondantes n'étaient pas différentes entre les 4 groupes (Figure 55.).

II.1.3.6. Signalisation de l'insuline hépatique et musculaire

La voie de signalisation de l'insuline a été étudiée en mesurant le niveau d'expression de PKB totale et de sa forme phosphorylée (pPKB) par western blot dans le foie et le muscle gastrocnémien après injection d'une charge en NaCl ou en insuline. Les rapports pPKB/PKB obtenus sont présentés sur les Figures 56. et 57..

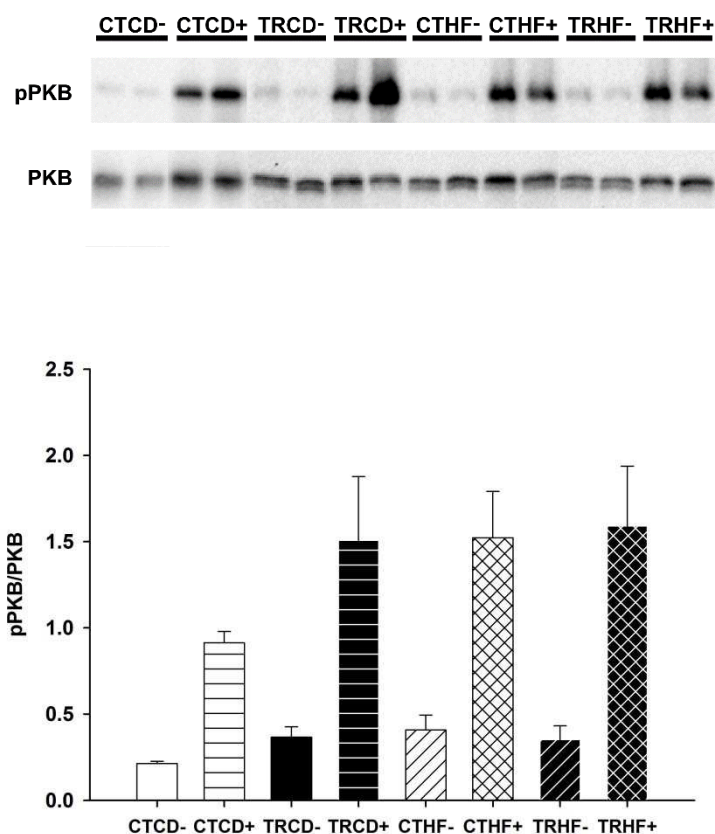


Figure 56. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) en haut et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB en bas dans le foie de la descendance, après injection de NaCl (-) ou d'une charge en insuline (+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8).

Ni l'entraînement maternel, ni les 10 semaines de régime HF n'ont eu d'effet sur l'activation de la voie de signalisation de l'insuline dans le foie de la descendance. En effet, les rapports pPKB/PKB n'étaient pas différents entre les rats des 4 groupes, que ce soit en conditions basales (après injection de NaCl) ou en conditions stimulées (après injections d'une charge en insuline) (Figure 56).

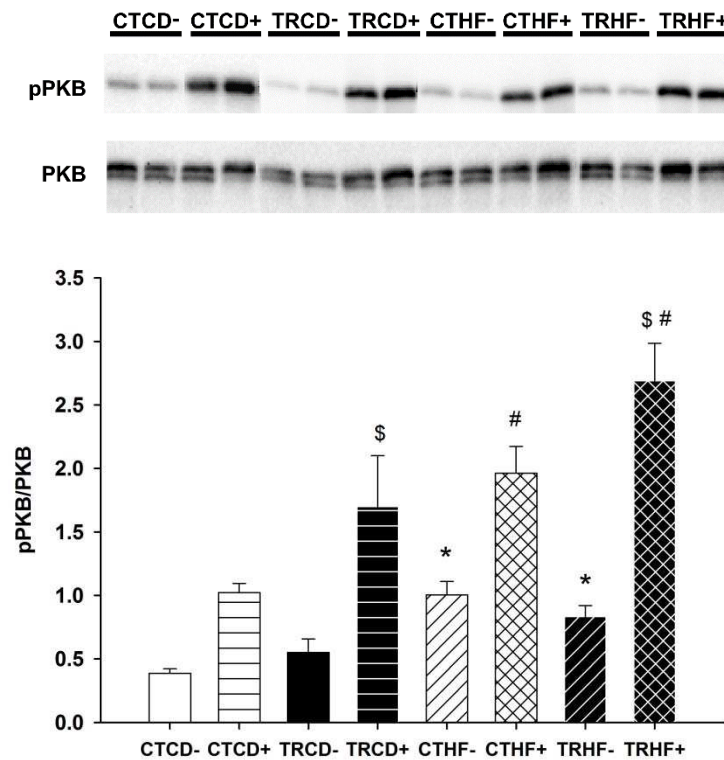


Figure 57. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) en haut et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB en bas dans le muscle gastrocnémien de la descendance, après injection de NaCl (-) ou d'une charge en insuline (+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8). * : $P < 0,05$ vs. CD-, \$: $P < 0,05$ vs. CT+, # : $P < 0,05$ vs. CD+

Dans le muscle, le régime HF a eu un effet global sur l'augmentation du rapport pPKB/TKB en conditions basales (+96 %, $P < 0.001$). En conditions stimulées par l'insuline, le régime HF et l'entraînement maternel ont eu un effet global sur l'augmentation du rapport pPKB/TKB dans le muscle (+71 % pour le régime HF et +48 % pour l'entraînement maternel TR, $P < 0.001$ et $P = 0.011$, respectivement) (Figure 57.).

II.1.3.7. Métabolisme mitochondrial musculaire en présence de substrats lipidiques et glucidiques

Tableau 23. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la respiration basale (V0), la respiration maximale (Vmax) et l'affinité (Km) pour le pyruvate des fibres isolées perméabilisées de muscles plantaires de la descendance.

	CTCD	TRCD	CTHF	TRHF
V0 ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g poids sec}^{-1}$)	1,27±0,09	1,18±0,19	1,10±0,11	1,08±0,19
Vmax ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g poids sec}^{-1}$)	8,27±0,64	7,38±0,38	7,74±0,46	6,78±0,47
Km (μM)	136±13	93±6*¥	117±10	114±10¥

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 15). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, ¥ : $P < 0,05$ vs. CT (CTCD+CTHF).

En présence de pyruvate comme substrat, la V0 et la Vmax n'étaient pas différentes entre les 4 groupes. Le Km pour le pyruvate était significativement plus faible chez les animaux TRCD par rapport aux animaux CTCD (-46 %, $P < 0,05$). De plus, l'entraînement maternel a eu un effet global sur la réduction du Km pour le pyruvate ($P < 0,05$) (Tableau 23.).

Tableau 24. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la respiration basale (V0), la respiration maximale (Vmax) et l'affinité (Km) pour le PCoA des fibres isolées perméabilisées de muscles plantaires de la descendance.

	CTCD	TRCD	CTHF	TRHF
V0 ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de poids sec}^{-1}$)	0,55±0,06	0,80±0,08*	0,66±0,06	0,63±0,04
Vmax ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de poids sec}^{-1}$)	2,29±0,15	2,44±0,24	3,08±0,14*§	2,75±0,21§
Km (μM)	202±29	60±16*£	160±31	219±44

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=13 à 15). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, § : $P < 0,05$ vs. CTHF, £ : $P < 0,05$ vs. TRHF, § : $P < 0,05$ vs. CD (CTCD+TRCD).

En présence de PCoA, l'entraînement maternel semble augmenter la V0 des animaux soumis au régime CD. En effet, la V0 des rats TRCD était significativement plus élevée que celles des rats CTCD. Le régime HF semble quant à lui augmenter la Vmax en présence de PCoA chez les animaux nés de mères CT. En effet, la Vmax de rats CTHF était significativement plus grande que celles des rats CTCD (Tableau 24.). La Vmax avec le PCoA comme substrat était significativement plus élevée avec le régime HF par rapport au régime CD. Le Km pour le PCoA des fibres des animaux TRCD était significativement plus faible que celui des animaux CTCD (-58 %, $P<0,05$) et TRHF (-71 %, $P<0,05$), avec une forte tendance par rapport aux animaux CTHF (-25 %) ($P=0,059$) (Tableau 24.).

Tableau 25. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la respiration basale (V0), la respiration maximale (Vmax) et l'affinité (Km) pour le PC des fibres isolées perméabilisées de muscles plantaires de la descendance.

	CTCD	TRCD	CTHF	TRHF
V0 ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de poids sec}^{-1}$)	0,46±0,05	0,57±0,09	0,50±0,08	0,65±0,08
Vmax ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g de poids sec}^{-1}$)	2,34±0,24	2,28±0,28	3,11±0,41	2,50±0,47
Km (μM)	159±15	223±58	183±24	147±41

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=7 à 11).

Ni l'entraînement maternel ni le régime HF n'ont eu d'effet sur les paramètres de respiration tels que la V0, la Vmax et le Km pour le PC, comme le montrent les valeurs similaires obtenues pour les différents groupes.

II.1.3.8. Contenu en insuline du pancréas et sécrétion d'insuline par les ilots

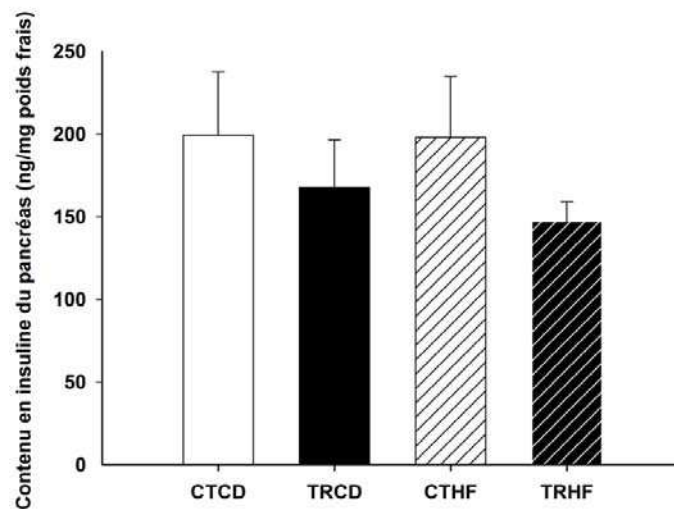


Figure 58. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur le contenu en insuline dans le pancréas de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 8).

Le régime HF ou l'entraînement de la mère ne semblent pas avoir eu d'effet sur le contenu en insuline du pancréas bien qu'il était légèrement réduit chez les animaux issus de mères entraînées, et ce quel que soit le régime ($P=0,221$) (Figure 58.).

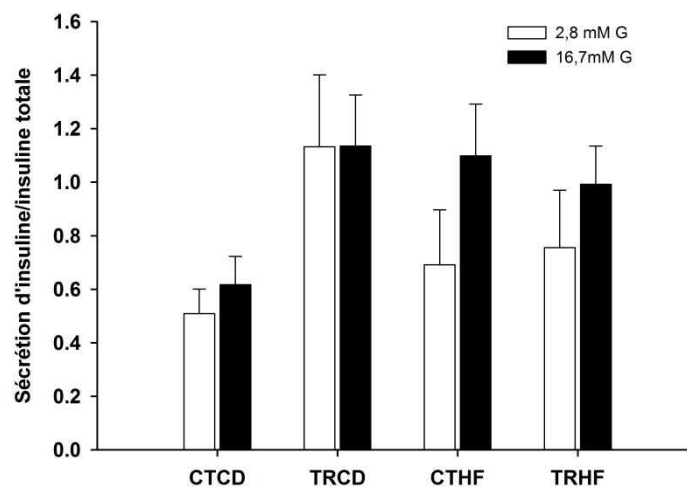


Figure 59. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur la sécrétion d'insuline par les ilots de la descendance, après incubation en bas glucose (2,8 mM G) puis en haut glucose (16,7 mM G). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=11 à 12).

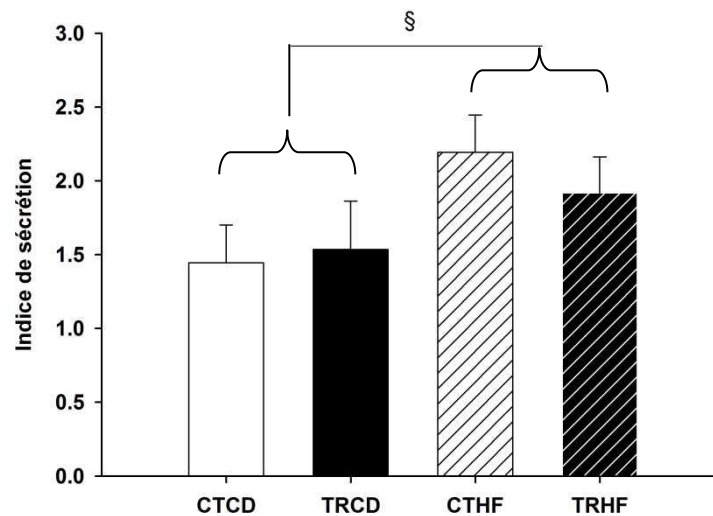


Figure 60. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur l'indice de sécrétion d'insuline par les ilots de la descendance, calculé en divisant la sécrétion en haut glucose (16,7 mM G) par celle en bas glucose (2,8 mM G). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=11 à 12). § : $P < 0,05$ vs. CD (CTCD+TRCD).

La sécrétion des ilots isolés tendait à être augmentée par l'entraînement des mères mais uniquement en condition bas glucose ($P=0,107$) (Figure 59.). Le régime HF a augmenté de manière significative l'indice de sécrétion des ilots, que la descendance soit issue de mères CT ou TR (+38 %, $P < 0,05$) (Figure 60.).

II.1.3.9. Expression des protéines et activité des enzymes des métabolismes glucidique et lipidique

II.1.3.9.1. La PEPCK, la CS, la HAD et l'énolase dans le foie et le muscle

L'expression de la PEPCK dans le foie n'a pas été modifiée par les 10 semaines de régime ni par l'entraînement maternel. Toutefois, ce dernier a eu tendance à diminuer la PEPCK hépatique des animaux ($P=0,106$) (Tableau 26.).

Tableau 26. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur les activités et contenus en enzymes du métabolisme glucidique et lipidique dans le foie et le muscle gastrocnémien de la descendance.

	CTCD	TRCD	CTHF	TRHF
PEPCK foie (U.A.)	22,4±3,1	16,8±2,0	18,2±2,1	15,9±1,7
CS foie ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g prot.}^{-1}$)	12,6±1,6	7,1±2,0 ¥	15,2±3,5	9,1±1,7 ¥
CS muscle ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g prot.}^{-1}$)	63,8±13,9	47,8±9,7	51,6±4,0	45,9±9,0
HAD foie ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g prot.}^{-1}$)	651,5±65,2	717,3±38,4	583,3±44,0 $\text{\$}$	460,7±44,0 $\text{\$}$
HAD muscle ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g prot.}^{-1}$)	83,5±14,0	143,9±57,8	98,8±7,6	112,9±13,8
Enolase foie ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g prot.}^{-1}$)	91,1±4,4	92,7±5,6	85,5±4,3 $\text{\$}$	67,5±4,2* $\text{\#\$\$}$
Enolase muscle ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot.}^{-1}$)	1,6±0,1	1,3±0,2	1,6±0,2	0,9±0,1

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8). * : $P<0,05$ vs. CTCD, # : $P<0,05$ vs. TRCD, \$: $P<0,05$ vs. CTHF, ¥ : $P<0,05$ vs. CT (CTCD+CTHF), § : $P<0,05$ vs. CD (CTCD+TRCD).

Les rats issus de mères entraînées présentaient une activité CS dans le foie significativement réduite par rapport aux rats issus de mères sédentaires (-43 %, $P<0,05$) (Tableau 26.). L'activité de la CS dans le muscle gastrocnémien n'a pas été modifiée par l'entraînement maternel ni par les 10 semaines de régime (Tableau 26.).

Les rats ayant été soumis au régime HF, qu'ils aient été de mères entraînées ou non, présentaient une activité HAD dans le foie significativement réduite par rapport aux rats nourris avec le régime contrôle (-24 %, $P<0,05$) (Tableau 26.). L'activité de la HAD dans le muscle gastrocnémien n'était pas significativement différente entre les animaux des 4 groupes (Tableau 26.).

Les rats ayant été soumis au régime HF, qu'ils aient été de mères entraînées ou non, présentaient une activité de l'énolase dans le foie significativement réduite par rapport aux rats nourris avec le régime contrôle (-16 %, $P<0,05$) (Tableau 26.). De plus, l'activité de l'énolase dans le foie était significativement plus faible chez les animaux TRHF par rapport aux animaux CTHF (Tableau 26.). L'activité de l'énolase dans le muscle gastrocnémien n'a pas été modifiée par l'entraînement maternel ni par les 10 semaines de régime (Tableau 26.).

II.1.3.9.2. La FAS dans le foie

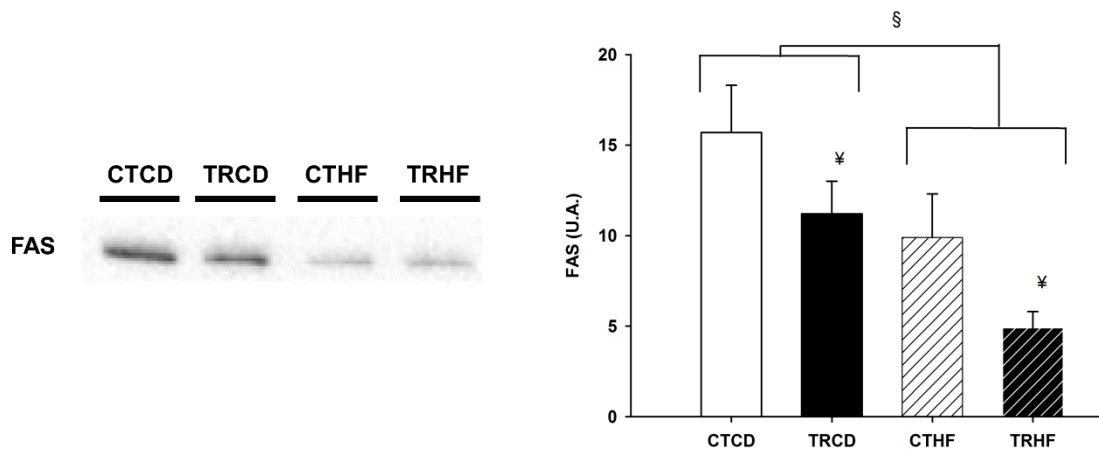


Figure 61. Contenu protéique de la FAS dans le foie de la descendance mesuré par western blot (à gauche) et exprimé en unités arbitraires (U.A.) (à droite). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8). § : $P < 0,05$ vs. CD (CTCD+TRCD), ¥ : $P < 0,05$ vs. CT (CTCD+CTHF).

L'entraînement des mères et le régime HF ont tous deux eu un effet global sur la réduction de l'expression de la FAS dans le foie de la descendance (Figure 61.).

II.1.3.9.3. La GSK3 dans le foie et dans le muscle

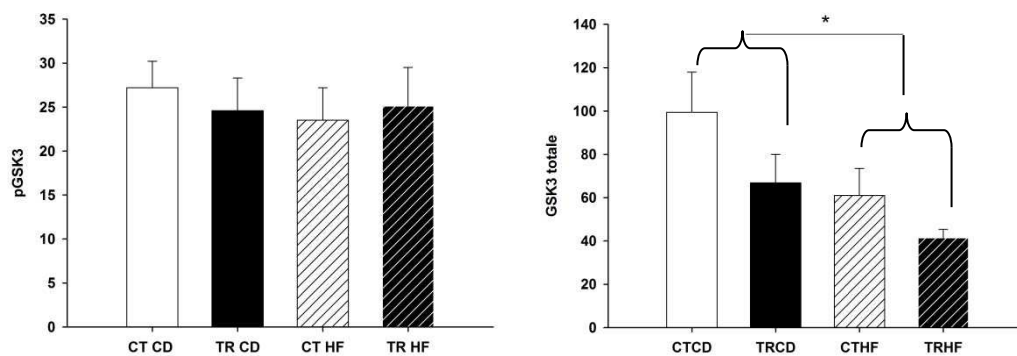


Figure 62. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur l'expression de la forme phosphorylée de GSK3 (pGSK3) et de la forme totale de GSK3 dans le foie de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8). * : $P < 0,05$ vs. CTCD+TRCD.

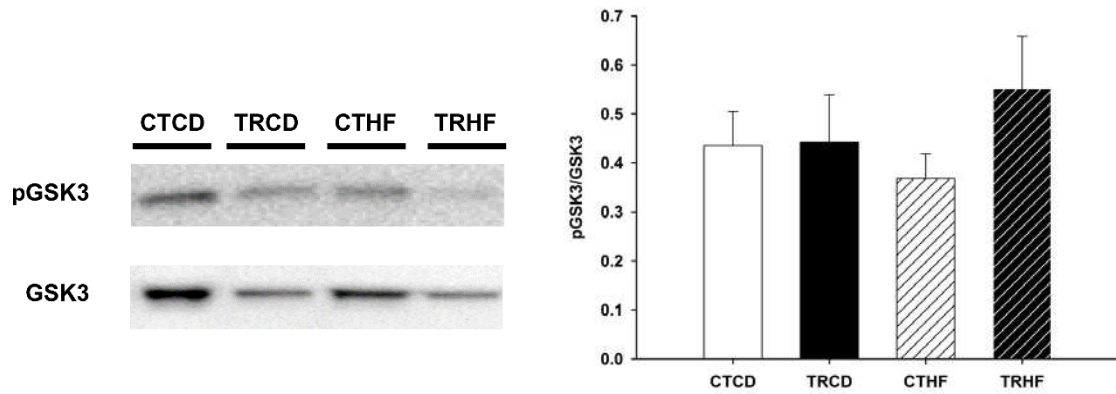


Figure 63. Western blot représentant le contenu en GSK3 totale et sa forme phosphorylée (pGSK3) à gauche et son niveau d'activation estimé par le ratio de la forme phosphorylée sur la forme totale à droite dans le foie de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

Dans le foie, la forme totale de GSK3 était significativement réduite chez les animaux nourris avec le régime HF par rapport à ceux nourris avec le régime CD et tendait à être diminuée chez la descendance issue de mères TR comparée à celle issue de mère CT ($P=0,06$) (Figure 62.). Toutefois, le rapport pGSK3/GSK3 et le contenu en GSK3 phosphorylée dans le foie n'ont pas été modifiés par l'exercice maternel ni par les 10 semaines de régime HF (Figures 62. et 63.).

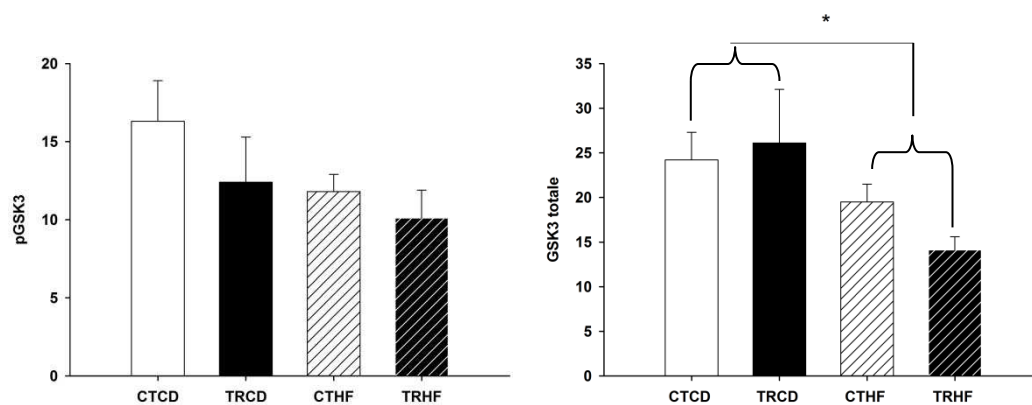


Figure 64. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur l'expression de la forme phosphorylée de GSK3 (pGSK3) et de la forme totale de GSK3 dans le muscle gastrocnémien de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8). * : $P<0,05$ vs. CTCD+TRCD.

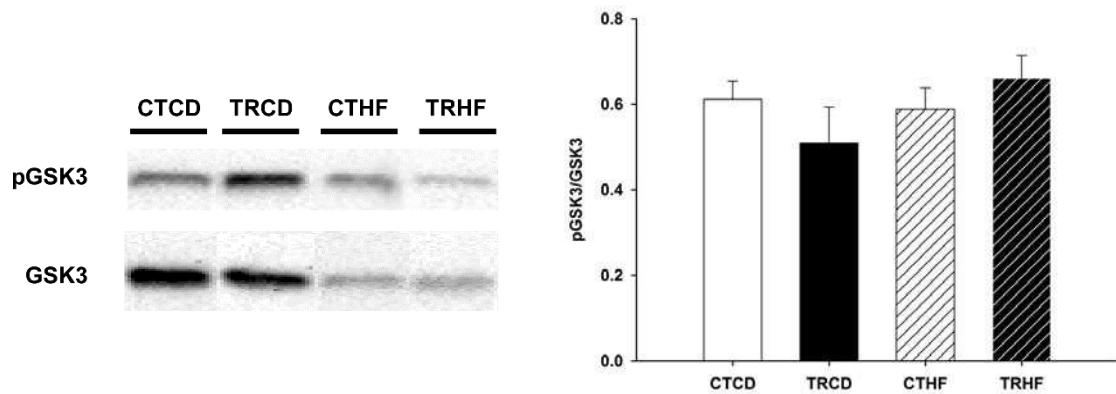


Figure 65. Western blot représentant le contenu en GSK3 totale et sa forme phosphorylée (pGSK3) à gauche et son niveau d'activation estimé par le ratio de la forme phosphorylée sur la forme totale à droite dans le muscle gastrocnémien de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8).

Dans le muscle, la forme totale de GSK3 était significativement réduite chez les animaux nourris avec le régime HF par rapport à ceux nourris avec le régime CD (Figure 64.). Le contenu en GSK3 phosphorylée tendait à être réduit par le régime HF ($P=0,116$) et par l'entraînement de la mère ($P=0,198$) (Figure 64.). Toutefois, le rapport pGSK3/GSK3 dans le muscle gastrocnémien n'a pas été modifié par l'exercice maternel ni par les 10 semaines de régime HF (Figures 65.).

II.1.3.10. Concentration en glycogène hépatique

La concentration en glycogène hépatique était significativement plus faible (-31 %, $P<0,05$) chez les animaux nourris pendant 10 semaines avec le régime HF comparés à ceux nourris avec le régime CD (Figure 66.).

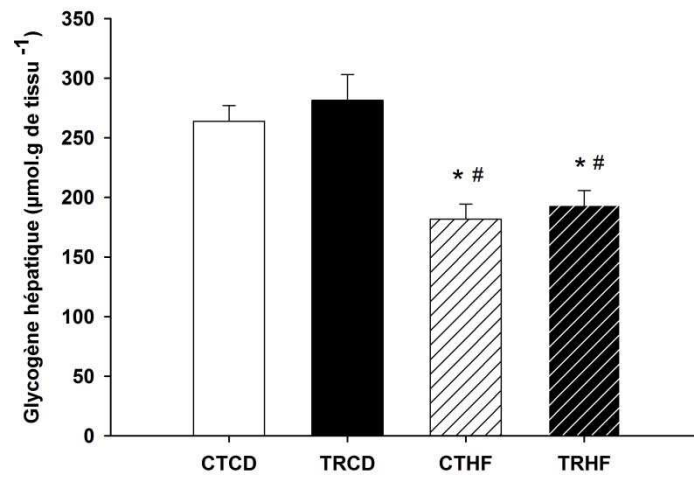


Figure 66. Effets de l'entraînement des mères et de 10 semaines de régime HF sur le contenu en glycogène hépatique de la descendance. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=6 à 8). * : $P < 0,05$ vs. CTCD, # : $P < 0,05$ vs. TRCD.

II.2. Discussion ETUDE 2 : Effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et la gestion des substrats énergétiques de la descendance soumise à un régime gras et sucré

L'objectif de ce travail était d'étudier les effets de l'entraînement maternel sous-maximal durant la gestation sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance lorsque celle-ci se développe dans un contexte nutritionnel déséquilibré. Pour cela, nous avons entraîné des rates sur tapis roulant avant et pendant la gestation et avons étudié la descendance mâle à l'âge de 3 mois après une exposition de 10 semaines à un régime standard contrôle (CT) ou riche en graisses et en sucres (HF).

Il apparaît de ce travail que l'exercice maternel sous-maximal durant la gestation est associé à une moindre prise de poids de la descendance quel que soit son régime nutritionnel. De plus, elle présente une réduction de sa masse grasse lorsqu'elle est exposée à un régime gras et sucré. L'entraînement de la mère semble également modifier certains indicateurs des métabolismes glucidique et lipidique chez la descendance au niveau musculaire et hépatique qui semblent dépendre du régime nutritionnel.

Un premier point à noter dans cette deuxième étude est que nous n'avons pas retrouvé la réduction de la masse grasse chez les rates TR après la lactation observée dans l'étude 1, bien que nous ayons utilisé le même protocole d'entraînement maternel dans ces deux études. Cependant, dans l'étude 2, les rates utilisées étaient plus jeunes et avaient un poids significativement inférieur par rapport à celles de l'étude 1 au début du protocole (197 ± 5 vs. 260 ± 4 g, respectivement) et avant la gestation (250 ± 5 vs. 276 ± 4 g). De plus, le fait que les rats âgés de 7 et 21 jours, nés de mères TR, aient un poids corporel moins important que ceux nés de mères CT alors que dans l'étude 1, ils étaient similaires pourrait être expliqué par la taille moyenne des portées des rates TR qui tendait à être plus grande que celle des rates CT dans l'étude 2 contrairement à l'étude 1. En effet, il a été montré que l'augmentation du nombre de fœtus (Chahoud and Paumgarten 2009), additionnée à une possible réduction du flux sanguin

utéroplacentaire durant les sessions d'exercice (Clapp 2006), pourraient limiter l'apport en substrats à chacun des fœtus et ainsi limiter leur croissance.

De nombreuses autres études chez l'humain et l'animal ont également noté une réduction du poids de la descendance issue de mères entraînées (Clapp and Capeless 1990; Clapp 1996; Hopkins, Baldi et al. 2010; Raipuria, Bahari et al. 2015). Nous avons ensuite contrôlé le poids corporel de la descendance du sevrage jusqu'à l'âge de 3 mois. Durant cette période, les animaux issus de mères entraînées ou sédentaires étaient nourris soit avec un régime CD soit avec un régime HF. Nous avons observé une réduction de la prise de poids de la descendance issue de mères TR dès la neuvième semaine après le sevrage, et ce, quel que soit le régime. Cela est en adéquation avec une étude menée chez des souris entraînées à la nage durant la gestation (Wasinski, Bacurau et al. 2015). En effet, ces auteurs ont montré une réduction du poids de la descendance de mères entraînées jusqu'à l'âge de 2 mois et une moindre prise de poids de celle-ci lorsqu'elle est soumise à un régime gras. Dans notre étude, le régime gras et sucré HF n'a pas eu les mêmes effets sur la masse grasse selon que les rats étaient nés de mères entraînées ou non. La réduction de la masse grasse chez les rats nés de mères entraînées âgés de 3 mois que nous avons mesurée dans notre étude est semblable à d'autres travaux où l'entraînement maternel était également associé à une moindre prise de masse grasse de la descendance (Wasinski, Bacurau et al. 2015; Sheldon, Nicole Blaize et al. 2016).

Dans notre étude, le régime gras et sucré HF est associé à une augmentation de la masse grasse et du poids du foie qui pourrait être due à une accumulation de lipides intra-hépatiques comme cela a déjà été décrit chez les rongeurs en réponse à un régime riche en graisses et en sucrose (Nascimento et al. 2010; Mendez et al. 2014). Associées à ces changements morphologiques, l'augmentation de la glycémie et de l'insulinémie après 6h de jeûne des animaux sous régime HF et la détérioration de leur tolérance au glucose par rapport aux animaux sous régime CD, sont similaires à d'autres résultats (Nakajima et al. 2015). Cependant l'entraînement maternel ne semble pas avoir d'effet sur ces paramètres, contrairement à ce qui a été montré dans des travaux précédents où l'entraînement était associé à une amélioration de la tolérance au glucose ainsi qu'à une réduction de l'insulinémie et de la glycémie (Carter, Lewis et al. 2012; Carter, Qi et al. 2013; Stanford, Lee et al. 2015; Vega, Reyes-Castro et al. 2015). Ces signes précurseurs d'un diabète de type 2 (2010) observés chez nos rats HF ne sont toutefois pas associés à une modification globale de la sensibilité à l'insuline durant le test ipITT qui était

similaire entre les animaux des 4 groupes. L'insulinémie basale plus élevée est probablement à l'origine de l'augmentation du rapport pPKB/PKB dans le muscle gastrocnémien des rats HF en conditions basales. En conditions stimulées par l'insuline, le rapport pPKB/PKB n'est pas différent entre les 4 groupes dans le foie mais est significativement augmenté dans le muscle des rats issus de mères entraînées et chez ceux soumis au régime HF. Cela suggère que l'entraînement maternel et le régime gras et sucré seraient tous deux associés à une amélioration de la sensibilité à l'insuline du muscle. Cet effet positif de l'entraînement maternel sur l'insulino-sensibilité de la descendance a déjà été décrit dans la littérature (Carter, Lewis et al. 2012; Carter, Qi et al. 2013; Wasinski, Bacurau et al. 2015). L'augmentation du rapport pPKB/PKB dans le muscle des animaux HF est quant à lui plus surprenant. En effet, des études menées sur des rats nourris avec un régime riche en graisses ont montré une réduction de la phosphorylation de PKB chez ces animaux par rapport à ceux nourris avec un régime standard (Nascimento et al. 2006; Cao et al. 2012), alors que l'ingestion de sucrose n'aurait pas d'effet sur la phosphorylation de PKB au niveau musculaire (Ruzzin et al. 2005). L'association étonnante observée entre la consommation de notre régime gras et sucré et l'augmentation du rapport pPKB/PKB dans le muscle en réponse à une charge en insuline est peut-être due au fait que, dans notre étude, les rats sont soumis à cette nourriture déséquilibrée dès le sevrage, ce qui pourrait entraîner une modification de la maturation de certains tissus (Torres-Rovira et al. 2013; Sheen et al. 2016). Le muscle squelettique, confronté dès le plus jeune âge à des concentrations importantes d'insuline circulantes liées à la consommation d'un régime riche en graisses et en sucres, pourrait alors mettre en place des mécanismes d'action compensatoires tels qu'une augmentation du niveau d'activation de la voie de signalisation de l'insuline en réponse à une stimulation. La mise en place de ce mécanisme protecteur contre l'installation d'une résistance à l'insuline pourrait expliquer pourquoi nous n'avons pas observé de différences entre les animaux CD et HF lors du test ipITT. L'altération de la tolérance au glucose observée chez les rats HF ne serait donc pas due à une insulino-résistance périphérique. Elle pourrait alors être le résultat d'un épuisement des cellules β du pancréas, qui seraient incapables de sécréter assez d'insuline pour compenser l'augmentation de la glycémie (Triplitt, Solis-Herrera et al. 2000). Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons isolé les îlots pancréatiques des animaux avant de les incuber avec différentes concentrations de glucose afin d'évaluer leur capacité sécrétoire. Les résultats ne font apparaître aucune différence significative de sécrétion d'insuline entre

les ilots des animaux des 4 groupes, que ce soit en condition bas glucose ou haut glucose. Cependant, la sécrétion des ilots en bas glucose tend à être augmentée chez les animaux issus de mères entraînées comparés aux animaux issus de mères sédentaires. Ce résultat est toutefois à relativiser car principalement dû à une moindre sécrétion d'insuline par les animaux du groupe CTCD. De plus, l'augmentation de l'indice de sécrétion des ilots (sécrétion en haut glucose/sécrétion en bas glucose) chez les animaux nourris avec le régime HF suggère que leurs ilots sécrètent plus (peut-être trop ?) d'insuline en réponse à une stimulation en haut glucose par rapport à ce qu'ils sécrétaient en bas glucose, comparés aux rats CD. Cette augmentation de l'indice de sécrétion induite par un régime gras n'a toutefois jamais été décrite dans la littérature à notre connaissance (Sauter et al. 2008; Tang et al. 2014).

Nous avons ensuite voulu voir si ces modifications de la composition corporelle, de l'homéostasie du glucose et de la fonction pancréatique, associées à l'entraînement maternel et/ou au régime HF, s'accompagnaient de changements dans la gestion des substrats glucidiques et lipidiques au niveau hépatique et musculaire.

Nous avons observé de nombreux changements au niveau du foie de la descendance. La moindre activité de la CS dans le foie de la descendance issue de mères entraînées par rapport à celle issue de mères sédentaires peut paraître étonnante au regard de la littérature. En effet, l'entraînement maternel serait associé à une augmentation des marqueurs de biogénèse mitochondriale, tels que PGC1- α ou TFAM dans le foie et le tissu adipeux de la descendance (Raipuria, Bahari et al. 2015; Sheldon, Nicole Blaize et al. 2016). Nous n'avons aucune hypothèse explicative pour ce résultat surprenant. Par ailleurs, le régime HF et l'entraînement maternel sont tous deux associés à une diminution de l'expression de la FAS. Cette diminution de l'expression de la FAS chez les animaux HF est elle aussi surprenante. En effet, la plupart des études ayant mesuré l'expression de cette enzyme et de ses ARNm au niveau hépatique ont rapporté une réduction de ces paramètres en réponse à un régime gras et/ou sucré (Ramgopal et al. 2014; Torres-Villalobos et al. 2015; Gnoni and Giudetti 2016). Cela est peut-être lié au fait que les animaux ont été soumis au régime HF dès le sevrage. Les tissus, comme le foie, confrontés lors des phases de développement à de grandes quantités de substrats circulants auraient pu alors mettre en place des mécanismes d'adaptation, comme par exemple une diminution de la quantité d'enzymes de la lipogénèse telles que la FAS. Cette hypothèse pourrait être confirmée par une étude menée sur des jeunes rats Wistar

âgés de seulement 6 semaines et nourris avec un régime gras durant 10 semaines, comme dans notre protocole (Brockman et al. 2014). Ces auteurs ont montré une réduction significative de l'expression des ARNm de la FAS dans le foie des animaux nourris avec le régime gras par rapport à ceux nourris avec un régime standard. A notre connaissance, aucune étude ne s'est auparavant intéressée à l'effet de l'exercice maternel sur l'expression et l'activité d'enzymes du métabolisme lipidique de la descendance. Toutefois, des études ont exploré l'effet de l'exercice physique chez des animaux soumis à un régime gras sur l'expression des ARNm de la FAS. Elles ont montré que, chez les animaux nourris avec un régime gras, l'exercice est associé à une réduction de l'expression de la FAS dans le foie des animaux comparés aux animaux sédentaires (Cho et al. 2014; Wu et al. 2015). La réduction de l'activité de la HAD dans le foie des animaux soumis au régime HF suggère que ce régime HF réduirait les capacités d'oxydation mitochondriale des acides gras au niveau hépatique, de façon similaire à de précédents travaux (Vial et al. 2011). Ces changements associés au régime HF dans le foie s'accompagnent de modifications d'indicateurs du métabolisme glucidique. En effet, la moindre activité de l'énolase dans le foie des animaux HF par rapport aux animaux CD semble indiquer que le régime HF aurait un effet limitant sur la glycolyse dans le foie, ce qui a déjà été montré chez des rats nourris avec un régime gras (An et al. 2013). La concentration en glycogène hépatique est significativement plus faible chez les animaux soumis au régime HF. Ils ont par ailleurs une expression de la GSK3 totale également plus faible dans le foie par rapport aux animaux CD, sans que le rapport pGSK3/GSK3 ne soit modifié par le régime HF. La plus faible concentration en glycogène hépatique chez les animaux HF est peut être liée au mode d'expression des résultats, qui sont rapportés au poids de l'échantillon. Or, comme nous l'avons vu précédemment, le foie des animaux HF est significativement plus lourd que celui des animaux CD, probablement à cause d'une accumulation de lipides dans le foie. Comme la concentration en glycogène hépatique est rapportée au poids de tissu, on peut aisément envisager qu'elle apparaisse diminuée à cause de ce facteur lorsqu'elle est exprimée par quantité de tissu, sans que la quantité absolue soit différente.

Nous avons également étudié l'effet de l'entraînement maternel et du régime HF sur l'utilisation des substrats glucidiques et lipidiques au niveau du muscle squelettique. Nous avons rapporté une augmentation de l'affinité pour le PCoA et le pyruvate chez les animaux du groupe TRCD si l'on en juge les diminutions des valeurs de Km obtenues

sur fibres musculaires isolées perméabilisées. Cela suggère que l'entraînement maternel modifierait les propriétés des mitochondries ou leur fonctionnement de façon à faciliter l'accès du PCoA et du pyruvate à la chaîne respiratoire. De tels changements dans l'affinité pour les substrats sont beaucoup moins documentés que ceux pour l'ADP (Zoll et al. 2003). La nature des changements responsables de ces variations d'affinité sont pour l'instant encore mal connus mais ils pourraient contribuer à modifier les capacités d'oxydation des lipides et des glucides au niveau musculaire chez la descendance. En effet, avec une meilleure affinité pour les substrats (K_m pour le PCoA et pour le pyruvate plus faibles), la vitesse de consommation d'oxygène est plus rapide pour une même concentration en substrats si on se réfère au modèle de Michaelis-Menten utilisé pour traiter les données cinétiques. Cela pourraient signifier que l'utilisation des glucides et des lipides se fait mieux et ce, pour des concentrations faibles de substrats. L'absence de modifications de l'affinité pour le palmitoyl-carnitine (K_m pour PC) semble indiquer que ce serait au niveau de l'entrée spécifique des acides gras dans la mitochondrie que s'exerceraient les effets de l'entraînement maternel. En effet, alors que l'entrée de PC repose sur la CPT1, l'entrée du PCoA fait intervenir une étape supplémentaire en amont impliquant l'AcylCoA synthase (ACS). Il serait donc intéressant d'étudier l'ACS chez les rats de mères entraînées soumis au régime contrôle afin de préciser son éventuelle implication dans la variation d'affinité de la mitochondrie pour le PCoA. Toutefois, cet effet de l'entraînement maternel sur l'affinité mitochondriale pour les substrats lipidiques et glucidiques est observé avec un régime contrôle mais disparaît dans le cas d'un régime gras et sucré. De façon semblable, une étude a montré que l'augmentation de la respiration mitochondriale musculaire en présence de substrats glycolytiques induite par un exercice physique était inhibée par la consommation d'un régime gras. Cependant, ce n'était pas le cas pour l'oxydation des substrats lipidiques (Skovbro et al. 2011). Le rapport pGSK3/GSK3 est similaire entre les animaux des 4 groupes dans le muscle gastrocnémien, comme c'était le cas dans le foie. Bien que l'expression de la forme totale de GSK3 apparaisse réduite par le régime HF dans le muscle gastrocnémien, la tendance à la diminution de la forme phosphorylée explique cette stabilité du rapport pGSK3/GSK3. Toutefois, l'entraînement maternel et le régime HF ne semblent pas avoir d'effet sur l'activité de la CS, de la HAD et de l'énolase dans le muscle. Cela est probablement dû au fait que nous avons effectué les mesures d'activité de ces enzymes sur le muscle gastrocnémien, qui est un muscle hétérogène, composé à la fois de fibres musculaires oxydatives et glycolytiques. Nous

n'avons malheureusement pas utilisé la totalité du muscle pour faire les homogénats nécessaires aux dosages, mais seulement prélevé un échantillon. La composition en fibres musculaires de cet échantillon a probablement beaucoup varié en fonction des animaux. Cela a entraîné des activités enzymatiques hétérogènes, avec une forte variabilité inter-individuelle au sein d'un même groupe, ne permettant pas de dégager un effet du régime HF ou de l'entraînement maternel sur ces paramètres.

Ces résultats suggèrent que l'entraînement maternel durant la gestation aurait un effet positif sur la composition corporelle et la gestion des substrats énergétiques de la descendance, mais dépendant de l'alimentation de cette dernière. Ainsi, la consommation d'un régime riche en graisses et en sucres pourrait annuler cet effet bénéfique de l'entraînement maternel, même si une exposition précoce à un tel régime serait associée à la mise en place de quelques mécanismes d'adaptation plutôt positifs à moyen terme.

III. Etude 3 :

**Effets à court terme et à long terme de l'entraînement
maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la
fonction pancréatique de la descendance**

III.1. Résultats ETUDE 3 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance

III.1.1 Caractéristiques des mères

Tableau 27. Poids corporel, prise alimentaire (PA) et poids relatif des organes des mères après la lactation

	CT	TR	SH
Poids avant l'étude (g)	239±3	247±3	243±4
Poids après la lactation (g)	262±3	276±5* ^{\$}	255±8
PA début de la gestation (g/jour)	22,1±0,7	24,3±1,6	22,5±0,4
PA pendant la lactation (g/jour)	46,0±5,4	55,6±1,5	50,6±2,6
PA fin de la lactation (g/jour)	69,7±3,6	63,6±0,5	58,9±3,4
Foie (g.kg ⁻¹)	26,7±0,51	27,25±0,60	28,24±1,07
Rein (g.kg ⁻¹)	3,33±0,07	3,34±0,09	3,47±0,10
Tissu adipeux (g.kg ⁻¹)	15,43±1,20	17,77±1,72	20,42±1,87*
Muscles (g.kg ⁻¹)	4,99±0,58	5,57±0,11	5,99±0,46

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=8 à 10, n=3 à 7 pour la PA). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétro-péritonéal et urogénital. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire. Les masses des différents organes ont été rapportées par kg de poids corporel. * : $P < 0,05$ vs. CT, ^{\$} : $P < 0,05$ vs. SH.

Le poids corporel des rates entraînées (TR), sham (SH) et contrôles (CT) était similaire au début de l'étude. Après l'allaitement, le poids corporel des rates TR est significativement plus élevé que celui des rates CT et SH. La prise alimentaire était similaire entre les trois groupes au début de la gestation et à la fin de la lactation. Toutefois, elle tendait à être supérieure chez les rates TR par rapport aux rates CT et SH ($P=0,101$ et $P=0,115$, respectivement) pendant la lactation et tendait à être réduite chez les rates SH par rapport à celle des rates CT à la fin de la lactation ($P=0,071$). L'entraînement des rates n'a pas affecté le poids des organes tels que le foie, le rein, les muscles soléaire, gastrocnémien et plantaire. Toutefois, la masse relative de la somme des tissus adipeux urogénital et rétropéritonéal des rates SH était plus élevée que celle des rates CT (Tableau 27.).

III.1.2. Caractéristiques des portées

III.1.2.1. Taille des portées et poids des ratons

Tableau 28. Caractéristiques des portées

	CT	TR	SH
Taille de la portée	12,8±0,5	12,2±0,6	10,6±0,9
Nombre de mâles	7,0±0,8	5,6±0,5	5,6±0,7
Nombre de femelles	5,8±0,5	6,6±0,7	5,0±0,9
Poids corporel J7 (g)	15,2±0,5	15,3±0,3	15,1±0,4
Poids corporel J14 (g)	32,3±0,7	30,9±0,7	29,9±0,8
Poids corporel J21 (g)	50,5±1,1	48,7±1,0	46,0±1,6*

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=4 à 9). Le poids corporel moyen est calculé en divisant le poids de la portée par le nombre de ratons mâles et/ou femelles dans la portée.

* : $P<0.05$ vs. CT.

Le nombre total de petits ainsi que le nombre de mâles et de femelles par portée n'étaient pas différents entre les groupes TR, SH et CT. Le poids corporel des petits n'a pas été affecté par l'entraînement de la mère ni la séparation maternelle à J7 et J14 après la mise bas. A J21, le poids corporel des petits des mères SH était significativement plus faible que celui des petits des mères CT (-9 %, $P<0,05$) et tendait à être plus faible que celui des petits des mères TR ($P=0,072$) (Tableau 28.).

III.1.2.2. Composition du lait maternel

Tableau 29. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur les concentrations en protéines et la répartition en acides gras dans le lait maternel

	CT	TR	SH
Protéines (mg.mL ⁻¹)	96,35±2,57	104,52±5,06	96,35±5,70
Acides gras (AG)			
AGS (%AG totaux)	62,6±1,1	58,2±0,7*	59,1±1,8
AGCM (%AG totaux)	30,9±1,0	29,5±0,8	29,4±0,9
AGMI (%AG totaux)	15,4±0,8	18,2±0,6*	16,8±1,0
AGPI (%AG totaux)	19,5±0,6	21,8±0,5*	21,8±1,2
Dont % ω6	88,2±0,3	88,8±0,2*	88,5±0,1
Dont % ω3	11,2±0,2	10,6±0,1	10,9±0,1
ω6/ω3	7,9±0,2	8,4±0,1	8,1±0,1
LA/ALA	11,3±0,3	11,4±0,3	11,3±0,3
ARA/DHA	2,4±0,1	2,5±0,1	2,5±0,1
Statut EFA	1,3±0,1	1,2±0,1	1,4±0,1

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=4 à 8).

AGS: acides gras saturés ; AGCM : acides gras à chaîne moyenne ; AGMI : acides gras mono-insaturés ; AGPI : acides gras poly-insaturés ; LA : acides linoléique ; ALA : acide α-linolénique. Statut EFA = (n-3+n-6/n-7+n-9).

Le lait des rates TR tendait à avoir une concentration en protéines plus élevée que le lait des rates CT 20 jours après la mise bas ($P=0,163$).

Le lait des rates TR contenait un pourcentage d'AGS plus faible et une proportion d'AGMI, d'AGPI et d' ω 6 plus élevée que celui des rates CT. Le pourcentage en acides gras ω 6 dans le lait des rates TR tendait à être plus élevé que dans celui des rates SH ($P=0,153$). Le lait des rates du groupe SH tendait à être moins riche en AGS ($P=0,137$) et plus riche en AGPI ($P=0,133$) et en ω 6 ($P=0,127$) que celui des rates CT. La répartition en AG dans le colostrum n'était pas significativement différente entre les 3 groupes (Annexes). Le tableau présentant les concentrations et la répartition des différents acides gras mesurés dans le lait est en annexe.

III.1.3. Caractéristiques de la descendance

III.1.3.1 Poids corporel et des organes

Tableau 30. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur le poids corporel et le poids relatif des organes de la descendance âgée de 28 jours

	4 semaines		
	CT	TR	SH
Poids corporel (g)	78,6±2,9	77,6±2,9	72,3±2,1
Poids des organes (g.kg ⁻¹)			
Foie	35,09±0,60	35,68±0,36	36,54±0,81
Rein	5,61±0,08	5,34±0,07	5,38±0,09
Tissu adipeux	5,11±0,28	5,38±0,58	4,59±0,62
Muscles	4,35±0,08	4,19±0,08	4,30±0,08
Pancréas	4,79±0,20	5,51±0,21*	5,50±0,28

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 27). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétropéritonéal, épидидymal et mésentérique. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire. Les masses des différents organes ont été rapportées par kg de poids corporel. * : $P<0,05$ vs. CT.

A l'âge de 4 semaines, le poids corporel et le poids relatif des organes n'étaient pas différents chez les rats des trois groupes sauf celui du pancréas. En effet, le poids relatif du pancréas des rats issus des mères entraînées pendant la lactation était significativement plus élevé comparé à celui des rats du groupe CT. Le poids relatif du pancréas des rats du groupe SH présentait une forte tendance à l'augmentation par rapport à celui des rats du groupe CT ($P=0,057$) (Tableau 30.).

Tableau 31. Poids corporel et poids relatif des organes de la descendance à 7 mois

	7 mois		
	CT	TR	SH
Poids corporel (g)	517,0±14,9	567,1±26,3\$	484,0±16,4
Poids des organes (g.kg ⁻¹)			
Foie	26,43±1,25	27,10±0,66	28,50±2,03
Rein	2,53±0,09	2,42±0,07	2,74±0,14
Tissu adipeux	46,74±5,05	49,83±5,10	43,63±5,57
Muscles	4,82±0,13	4,63±0,15\$	5,31±0,19
Pancréas	2,82±0,17	2,66±0,12	3,07±0,16

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM (n=8). La masse du tissu adipeux correspond à la somme des masses des tissus adipeux rétropéritonéal, épидидymal et mésentérique. La masse des muscles correspond à la somme des masses des muscles gastrocnémien, plantaire et soléaire. Les masses des différents organes ont été rapportées par kg de poids corporel. \$: $P<0.05$ vs. SH.

Chez la descendance âgée de 7 mois, l'entraînement des mères pendant la lactation est associé à un poids corporel significativement plus élevé comparé à celui des animaux du groupe SH, avec une tendance à l'augmentation par rapport à celui des animaux du groupe CT ($P=0,169$) (Tableau 31.). Les poids relatifs des organes n'étaient pas différents entre les rats des trois groupes sauf celui des muscles. En effet, le poids relatif des muscles des animaux du groupe SH était significativement plus élevé que celui des animaux du groupe TR et présentait une forte tendance à l'augmentation par rapport à celui des animaux du groupe CT ($P=0,079$). De plus, le poids relatif du pancréas tendait à être plus élevé chez les animaux du groupe SH comparés à ceux du groupe TR ($P=0,059$) (Tableau 31.).

III.1.3.2. Paramètres sanguins

III.1.3.2.1. Glycémie

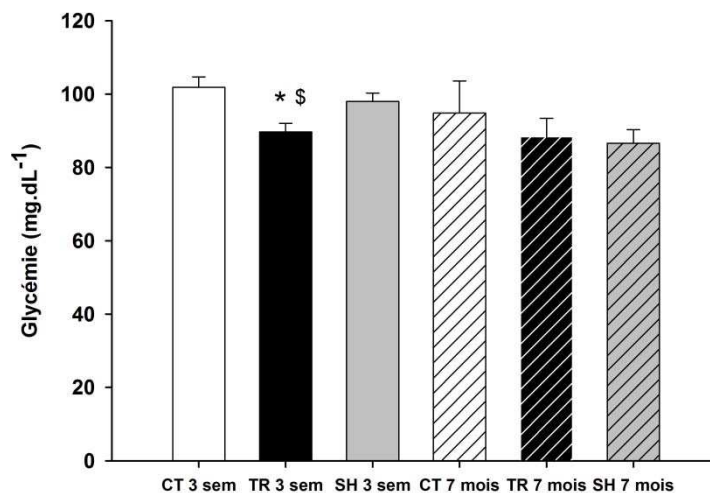


Figure 67. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la glycémie après 16h de jeûne de la descendance à l'âge de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8 à 12). * : $P < 0,05$ vs. CT 3 sem, \$: $P < 0,05$ vs. SH 3 sem.

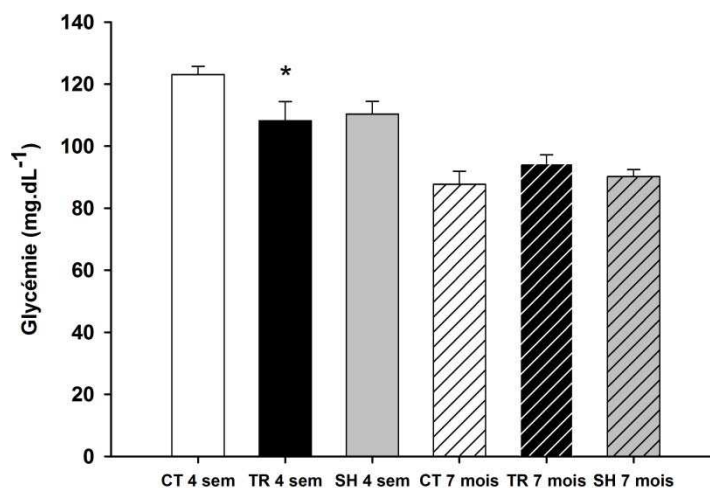


Figure 68. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la glycémie après 6h de jeûne de la descendance à l'âge de 28 jours (4 sem) et de 7 mois.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=7 à 14). * : $P < 0,05$ vs. CT 4 sem.

Après 16h de jeûne, la glycémie des rats âgés de 21 jours issus de mères TR était significativement plus faible que celle des rats issus de mères CT et SH (Figure 67.). Après 6h de jeûne, la glycémie des rats âgés de 28 jours nés de mères CT était significativement plus élevée par rapport à celle des rats nés de mères TR, avec une tendance à l'augmentation par rapport à celle des rats nés de mères SH ($P=0,073$) (Figure 68.). Chez les animaux âgés de 7 mois, les glycémies étaient similaires quelles que soit la durée du jeûne (Figures 67. et 68.).

III.1.3.2.2. Insulinémie

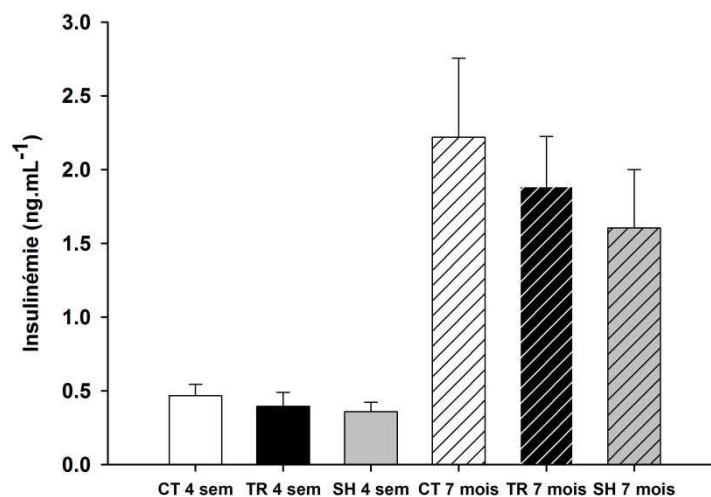


Figure 69. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur l'insulinémie après 6h de jeûne de la descendance à l'âge de 28 jours (4 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n= 11 à 14).

L'insulinémie après 6h de jeûne n'était pas significativement différente entre les 3 groupes, que ce soit à l'âge de 28 jours ou à l'âge de 7 mois (Figure 69).

III.1.3.3. Tolérance au glucose

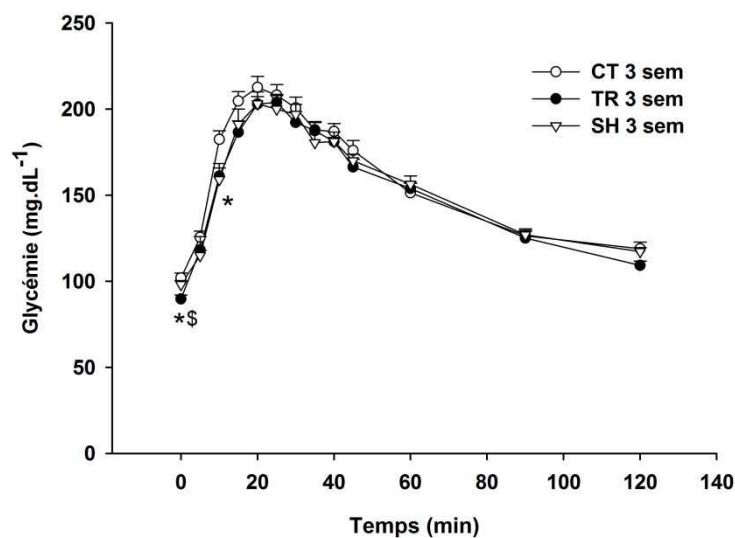


Figure 70. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 21 jours sur 120 min et après 16h de jeûne lors du test OGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=12). * : $P < 0,05$ vs. CT 3 sem, \$: $P < 0,05$ vs. SH 3 sem.

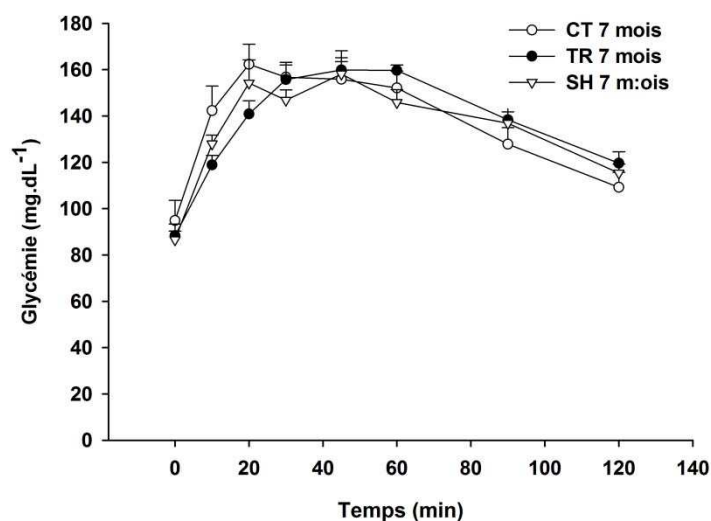


Figure 71. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 7 mois sur 120 min et après 16h de jeûne lors du test OGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8).

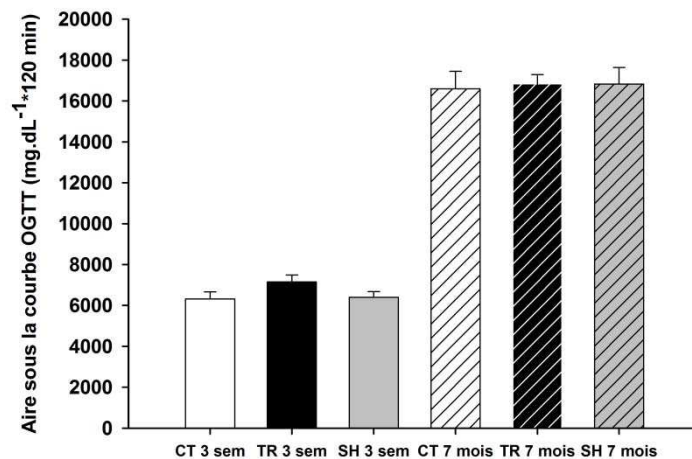


Figure 72. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la tolérance au glucose de la descendance âgée de 21 jours (3 sem) et de 7 mois, estimée par l'aire sous la courbe de glycémie obtenue lors du test OGTT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=7 à 12).

Au sevrage, la tolérance au glucose n'était pas différente entre les rats des groupes TR, SH et CT. En effet, l'aire sous la courbe de glycémie n'était pas significativement différente entre les rats des trois groupes (Figure 72.). Toutefois, au temps T=0 min, la glycémie des animaux du groupe TR était significativement plus basse que celle des animaux du groupe CT et SH. Au temps T=10 min du test, la glycémie des rats du groupe CT était supérieure à celles des animaux SH, et présentait une forte tendance à l'augmentation par rapport à celle des animaux TR ($P=0,052$) (Figure 70.).

A l'âge de 7 mois, la tolérance au glucose n'était pas différente entre les trois groupes. En effet, l'évolution des glycémies durant le test et les aires sous les courbes de glycémie étaient similaires entre les groupes (Figures 71. et 72.).

III.1.3.4. Sensibilité à l'insuline

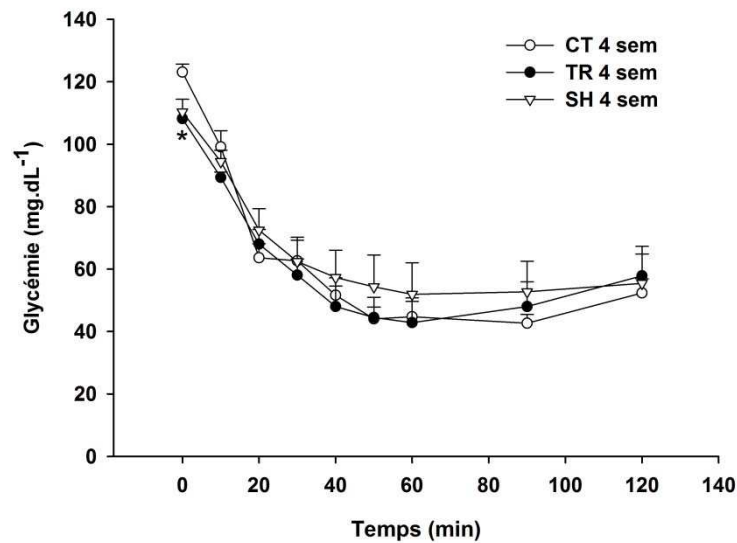


Figure 73. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 28 jours sur 120 min et après 6h de jeûne lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=10 à 15). * : $P < 0,05$ vs. CT 4 sem.

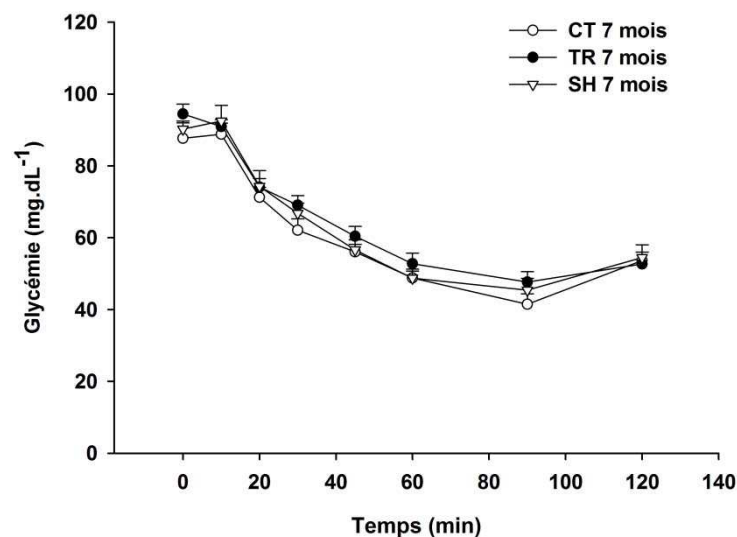


Figure 74. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la cinétique de la glycémie de la descendance âgée de 7 mois sur 120 min et après 6h de jeûne lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8).

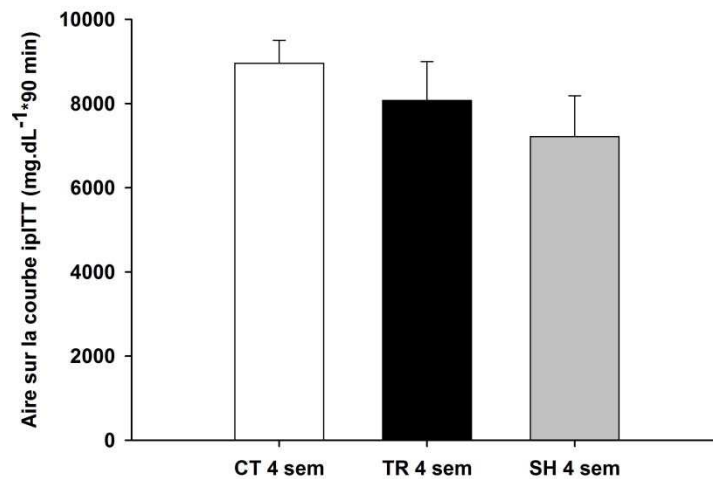


Figure 75. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la sensibilité à l'insuline de la descendance âgée de 28 jours (4 sem), estimée par l'aire sur la courbe de glycémie obtenue lors des 90 premières minutes du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=9 à 14).

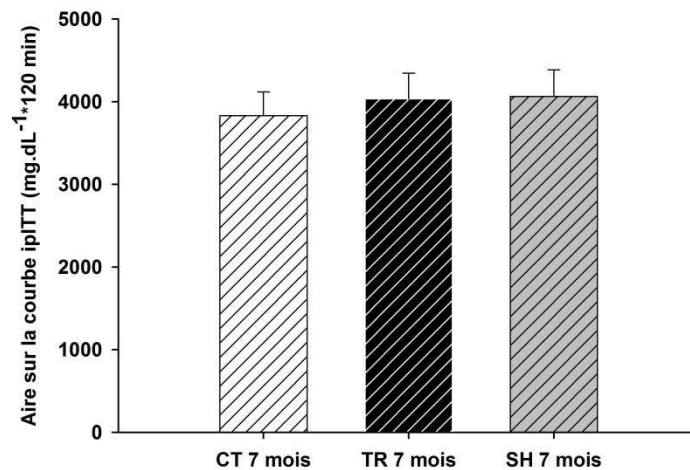


Figure 76. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la sensibilité à l'insuline de la descendance âgée de 7 mois, estimée par l'aire sur la courbe de glycémie obtenue lors du test ipITT. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=8).

A l'âge de 28 jours, la tolérance à l'insuline n'était pas différente entre les trois groupes. En effet, l'aire sur la courbe de glycémie durant les 90 premières minutes du test était similaire entre les rats des groupes CT, TR et SH (Figure 75.). Toutefois, au temps $T = 0$ min, la glycémie des animaux du groupe CT était supérieure à celle des animaux du groupe TR, avec une tendance à l'augmentation par rapport aux animaux du groupe SH ($P=0,073$) (Figure 73.).

Chez les rats âgés de 7 mois; l'évolution de la glycémie n'était pas différente entre les animaux des trois groupes pendant toute la durée du test ipITT (Figure 74.). L'aire sur la courbe de glycémie obtenue lors du test ipITT était donc similaire entre les rats des groupes CT, TR et SH (Figure 76.).

III.1.3.5. Signalisation de l'insuline hépatique et musculaire

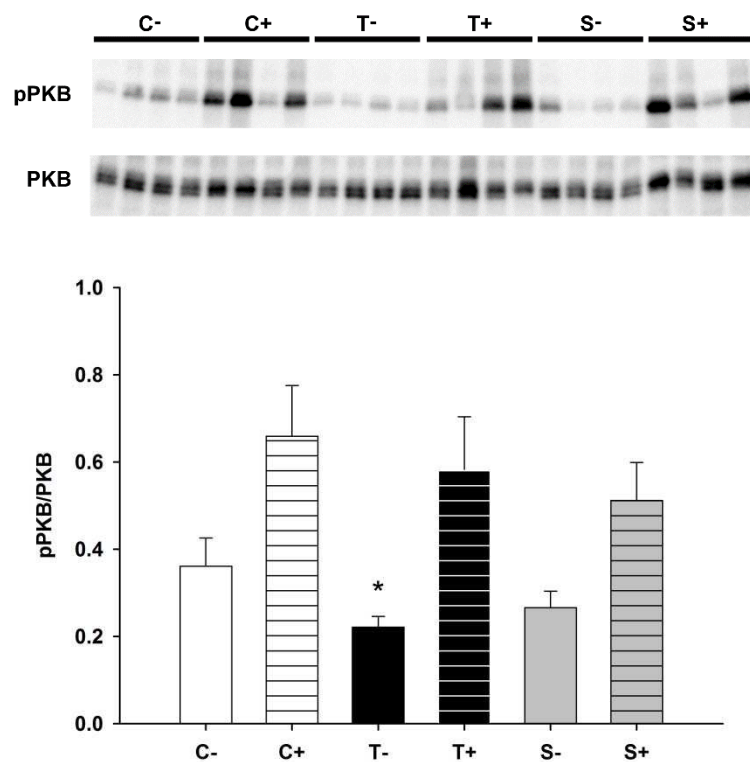


Figure 77. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) en haut et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB en bas dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 21 jours, après injection de NaCl (-) ou d'une charge en insuline (+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM ($n=8$). * $P<0,05$ vs. C-.

Au sevrage, le rapport pPKB/PKB dans le muscle gastrocnémien était significativement plus faible (-39 %, $P<0,05$) chez les rats du groupe TR par rapport à ceux du groupe CT en conditions basales (T- et C-, respectivement) (Figure 77.). En conditions stimulées par l'insuline, le rapport pPKB/PKB était similaire dans les trois groupes (C+, T+ et S+) (Figure 77.).

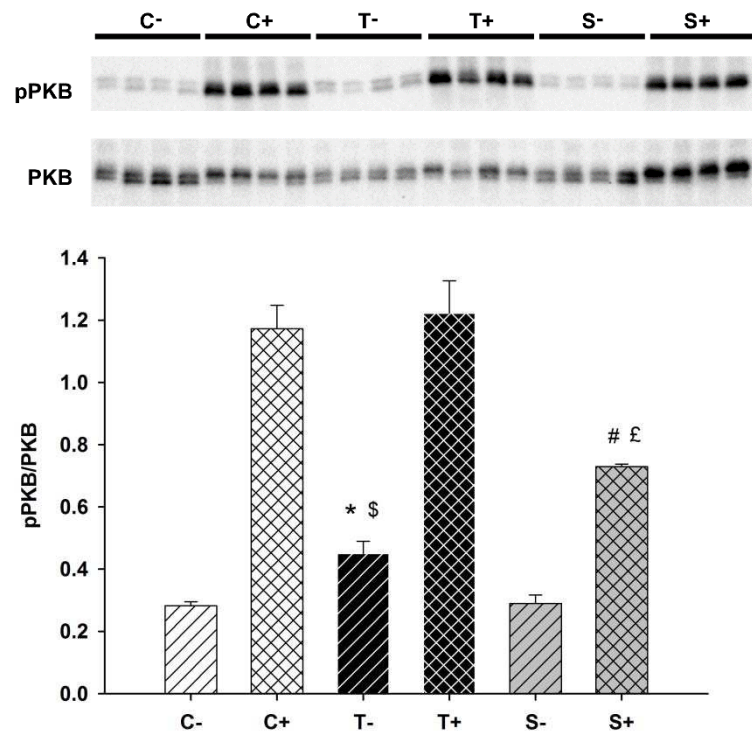


Figure 78. Western blot représentant le contenu en protéine kinase B (PKB) totale et sa forme phosphorylée (pPKB) en haut et le rapport de la forme phosphorylée sur la forme totale de PKB en bas dans le muscle gastrocnémien de la descendance à l'âge de 7 mois, après injection de NaCl (-) ou d'une charge en insuline (+). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=4). * : $P<0,05$ vs. C-, \$: $P<0,05$ vs. S-, # : $P<0,05$ vs. C+, £ : $P<0,05$ vs. T+.

A l'âge de 7 mois, le rapport pPKB/PKB dans le muscle gastrocnémien des rats du groupe TR était significativement plus élevé (+57 %, $P<0,05$) par rapport à celui des rats des groupes CT et SH en conditions basales (T- vs. C- et S-) (Figure 78.). En conditions stimulées par l'insuline, le rapport pPKB/PKB dans le muscle était

significativement plus faible chez les animaux du groupe SH (-39 %, $P<0,05$) par rapport à ceux des groupes CT et TR (SH+ vs. CT+ et TR+) (Figure 78).

III.1.3.6. Contenu en insuline du pancréas et sécrétion d'insuline par les îlots

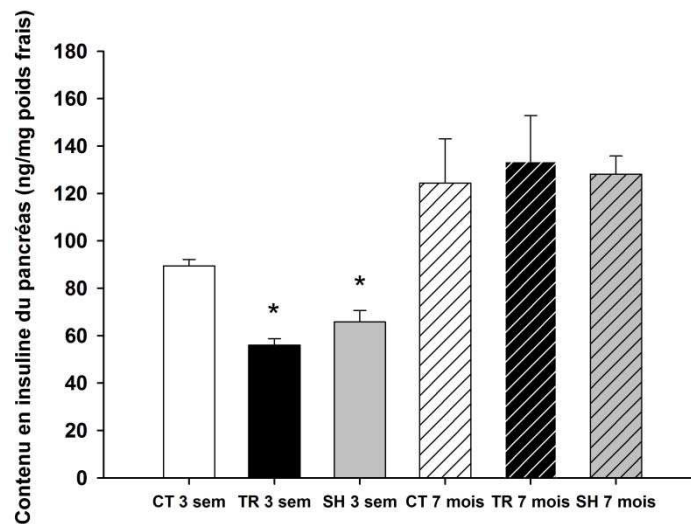


Figure 79. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur le contenu en insuline dans le pancréas de la descendance âgée de 21 jours (3 sem) et de 7 mois. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=3 à 8). * : $P<0,05$ vs. CT 3 sem.

Au sevrage, le contenu en insuline du pancréas était significativement plus faible chez les rats des groupes TR et SH par rapport à ceux du groupe CT et tendait à être réduit chez les animaux du groupe TR par rapport à ceux du groupe SH ($P=0,069$) (Figure 79.). A l'âge de 7 mois, le contenu en insuline dans le pancréas était similaire entre les animaux des trois groupes (Figure 79.).

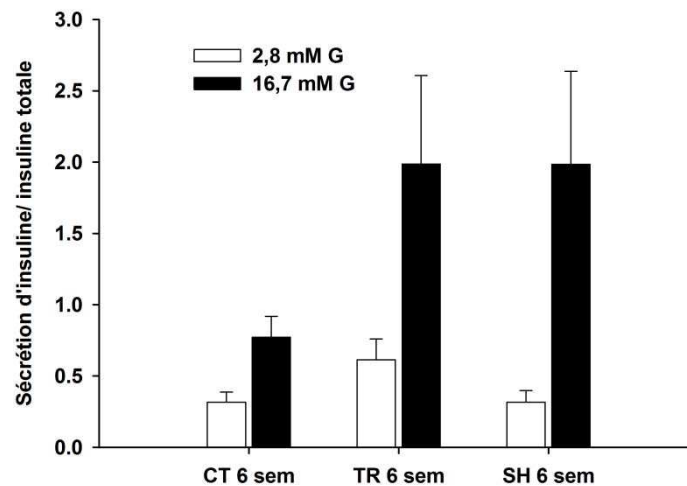


Figure 80. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur la sécrétion d'insuline par les îlots de la descendance âgée de 6 semaines après incubation en bas glucose (2,8 mM G) puis en haut glucose (16,7 mM G). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=5 à 7).

A l'âge de 6 semaines, la sécrétion d'insuline par les îlots n'était pas différente entre les trois groupes, que ce soit en condition bas glucose (2,8 mM G) ou haut glucose (16,7 mM G). Toutefois, la sécrétion des îlots des animaux du groupe TR tendait à être plus élevée que celles des animaux du groupe SH en condition bas glucose (2,8 mM G) ($P=0,152$). De plus, en condition haut glucose, la sécrétion des îlots des animaux du groupe TR tendait à être supérieure à celle des animaux du groupe CT ($P=0,138$) (Figure 80).

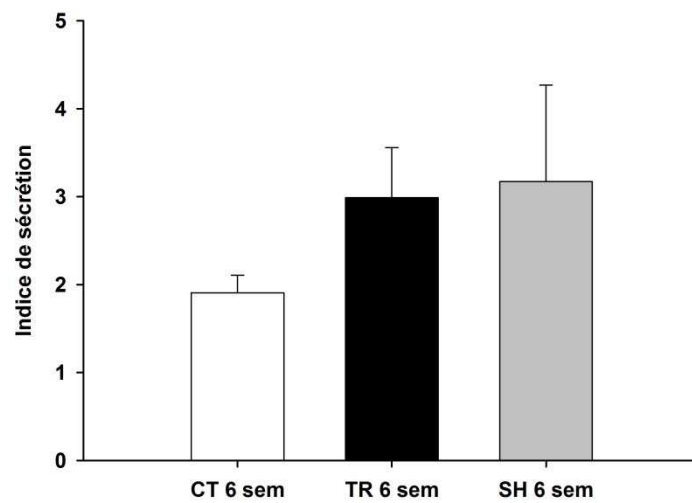


Figure 81. Effets de l'entraînement et de la séparation maternelle pendant la lactation sur l'indice de sécrétion d'insuline par les ilots de la descendance à l'âge de 6 semaines, calculé en divisant la sécrétion en haut glucose (16,7 mM G) par celle en bas glucose (2,8 mM G). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM (n=4 à 7).

L'indice de sécrétion des ilots de la descendance âgée de 6 semaines n'était pas significativement différent entre les trois groupes. Toutefois, il tendait à être plus élevé chez les animaux du groupe TR par rapport à ceux du groupe CT ($P=0,156$) (Figure 81).

III.2. Discussion ETUDE 3 : Effets à court terme et à long terme de l'entraînement maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance

L'objectif de ce travail était d'étudier les effets de l'entraînement maternel sous-maximal durant la lactation sur la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance et ce, à court et à long terme. Pour cela, nous avons entraîné des rates sur tapis roulant pendant la lactation et avons étudié la descendance mâle au sevrage et à l'âge de 7 mois.

Nous avons montré que l'exercice maternel sous-maximal durant la lactation était associé à une réduction de la glycémie et à une modification du fonctionnement du pancréas de la descendance dans les premières semaines de la vie ainsi qu'à une modification de la composition du lait maternel en lipides et en protéines. L'entraînement maternel est également associé à une augmentation de la prise de poids de la descendance avec l'âge.

Le protocole d'entraînement maternel utilisé dans cette étude, bien que réalisé seulement durant la lactation, est similaire à celui employé pour les deux premières études. Toutefois, la durée totale d'entraînement pour cette étude étant de seulement 20 jours (contre environ 7 semaines pour les études 1 et 2), l'augmentation de l'intensité de l'exercice s'est faite sur 8 jours au lieu de 15 jours. Cela a été possible car les rates avaient été familiarisées à la course sur tapis roulant 3 jours avant la gestation et n'étaient plus gestantes puisque allaitantes. Les rates ont donc été entraînées de 30 à 60 min par jour. Durant les séances d'entraînement, les rates étaient séparées de leurs ratons. Afin de distinguer les effets propres à l'exercice de ceux dus à la séparation maternelle quotidienne sur la descendance, nous avons utilisé un groupe supplémentaire (SH) composé de femelles séparées de leurs ratons durant la même durée que les femelles TR, en plus d'un groupe de femelles CT (non séparées de leurs ratons). Il ne s'agit pas ici de discuter des effets de la séparation maternelle sur le métabolisme de la descendance, car c'est une autre thématique en soi, mais bien d'utiliser les résultats du groupe SH pour isoler les effets propres de l'entraînement durant la lactation.

Le poids corporel plus important mesuré chez les rates entraînées par rapport à celui des rates CT et SH après la lactation pourrait s'expliquer par des modifications dans leur prise alimentaire qui tendait à être supérieure à celle des rates CT et SH pendant la lactation. Cette tendance à l'augmentation est probablement une réponse destinée à compenser le supplément de dépense énergétique dû à l'exercice. En effet, l'augmentation de la prise alimentaire chez des femelles entraînées pendant la lactation a déjà été montrée (Treadway and Lederman 1986). Toutefois, dans notre étude, la tendance à l'augmentation de la prise alimentaire des rates TR est surtout visible en début de lactation mais tend à disparaître à la fin de la période de lactation. Nous avons également observé une tendance à la diminution de la prise alimentaire des rates SH par rapport aux rates CT en fin de lactation, qui pourrait être liée au stress induit par la séparation maternelle (Ricart-Jane et al. 2002). Elle n'est cependant pas retrouvée chez les rates TR qui sont également séparées de leurs petits. On peut imaginer que l'exercice et le stress lié à la séparation ont des effets opposés qui s'annulent pratiquement avec un léger avantage pour l'effet exercice, pouvant expliquer cette tendance à l'augmentation de la prise alimentaire chez les rates entraînées en début de lactation. Cet effet serait moins important en fin de lactation mais toujours présent, permettant d'expliquer la moindre réduction de la prise alimentaire en fin de lactation chez les rates entraînées par rapport aux rates SH, bien que l'on n'atteigne pas le seuil de significativité. Cette tendance à avoir une prise alimentaire réduite chez les rates SH durant la lactation pourrait par ailleurs expliquer la réduction du poids corporel de leurs ratons à l'âge de 21 jours qui perdure jusqu'à l'âge de 7 mois. Cela est probablement dû au fait que la réduction de la prise alimentaire et la carence en macronutriments et micronutriments durant la lactation sont associées à une réduction de la qualité du lait et de sa production (Lee and Kelleher 2016). Si l'entraînement maternel tend à augmenter la concentration en protéines dans le lait dans notre étude, le stress induit par la séparation maternelle ne semble pas la modifier. La répartition en lipides dans le lait maternel semble également être impactée par l'entraînement maternel. Celui-ci est en effet associé à une réduction de la proportion d'AGS et à une augmentation de la proportion d'AGMI et d'AGPI dans le lait par rapport à celui des rates CT. Ces résultats ne sont pas significatifs comparés au lait des rates SH. Toutefois, le lait des rates SH tend à contenir moins d'AGS et plus d'AGPI que celui des rates CT. On peut donc supposer que la séparation maternelle et l'entraînement de la mère vont modifier dans un sens identique et de manière synergique la répartition en lipides dans le lait en réduisant sa concentration en AGS et en

augmentant la proportion d'acides gras insaturés, ce qui pourrait potentiellement améliorer le fonctionnement cognitif de la descendance (Ranade and Rao 2013). Les modifications significatives de la répartition en lipides dans le lait maternel des rates TR est un effet propre à l'entraînement. En effet, le dosage des lipides dans le colostrum prélevé 2 jours après la mise bas, c'est à dire avant le début du protocole d'entraînement, n'a montré aucune différences dans la répartition en AG entre les 3 groupes (Annexes). Ces modifications de la répartition en acides gras dans le lait associées à l'entraînement maternel pourraient par exemple être dues à une modification de l'activité des désaturases dans la glande mammaire, à une modification de la composition lipidique de la glande mammaire ou encore à une utilisation préférentielle des AGS par l'exercice de la mère qui augmenterait alors la quantité d'AGPI et AGMI disponibles dans le lait maternel. Toutefois, à notre connaissance, aucune données de la littérature ne nous permet de valider de telles hypothèses. La séparation maternelle seule ne modifie pas significativement la concentration en protéines ni la répartition en acides gras dans le lait. La réduction du poids corporel de la descendance des rates SH pourrait donc être expliquée par une moindre prise alimentaire des ratons liée à une moindre production de lait plutôt qu'à une modification de sa qualité (Lee and Kelleher 2016).

L'entraînement maternel est également associé à une augmentation du poids du pancréas de la descendance âgée de 4 semaines par rapport à celle issue de rates contrôles. Ce résultat semble toutefois davantage lié à la séparation maternelle plutôt qu'à l'entraînement physique lui-même. En effet, nous observons également une forte tendance à l'augmentation du poids du pancréas chez les ratons du groupe SH comparés à ceux du groupe CT. Ces augmentations du poids relatif du pancréas sont associées à une tendance à la diminution de son contenu en insuline chez les animaux des groupes TR et SH par rapport à ceux du groupe CT. Par ailleurs, les ilots pancréatiques des ratons du groupe TR tendent à sécréter plus d'insuline, en condition bas glucose par rapport à ceux des ratons du groupe SH et en condition haut glucose par rapport à ceux des ratons du groupe CT. De plus, l'indice de sécrétion (sécrétion haut glucose/sécrétion bas glucose) des ilots des petits de mères TR tend à être supérieur à celui des ratons de mères CT. Il apparaît donc que l'entraînement de la mère d'une part et la séparation maternelle d'autre part, ont affecté le développement et le fonctionnement du pancréas de la descendance dans les premières semaines de vie.

Les modifications au niveau du pancréas encore immature de la descendance des groupes TR et SH sont peut-être liées à un stress oxydatif induit par la séparation maternelle (Schiafone et al. 2013). En effet, il a été montré que les cellules β du pancréas sont très sensibles au stress oxydatif car elles possèdent peu d'enzymes antioxydantes (Kajimoto and Kaneto 2004; Kaneto et al. 2005; Drews et al. 2010). La tendance à l'augmentation de la sécrétion d'insuline par les îlots des rats du groupe TR ne semble pas avoir de conséquences sur l'insulinémie qui est similaire chez les rats des 3 groupes âgés de 4 semaines. Cependant, la glycémie des rats semble affectée par l'entraînement maternel. En effet, la glycémie des petits issus de rates TR est significativement plus faible que celle des petits du groupe CT après 6h de jeûne et significativement réduite par rapport aux petits des groupes CT et SH après 16h de jeûne. Cette réduction de la glycémie observée chez les rats du groupe TR pourrait être liée à la tendance à l'augmentation de la sécrétion d'insuline par les îlots isolés de ces animaux ou à une modification de la composition du lait maternel due à l'entraînement des mères. Il est peu probable qu'une modification de la composition du lait maternel en glucides soit à l'origine de cette réduction de la glycémie étant donné que les mesures de glycémie ont été réalisées chez les petits âgés de 3 et 4 semaines, c'est à dire après le sevrage (qui a lieu en général entre le 18ème et le 20ème jour après la naissance). On peut donc émettre l'hypothèse selon laquelle ce n'est pas l'apport énergétique du lait qui est en cause dans ces modifications de glycémie, mais plutôt qu'un changement de la composition du lait a eu un impact sur la maturation du métabolisme de la descendance qui perdure même après le sevrage. Toutefois, à notre connaissance, aucune donnée de la littérature ne nous permet de valider ou invalider de telles hypothèses. Il est donc possible que la tendance à l'augmentation de la concentration en protéines dans le lait des rates TR ainsi que la modification de sa répartition en lipides aient pu modifier la glycémie des rats même après le sevrage. Cette réduction de la glycémie et cette légère modification du fonctionnement du pancréas des rats du groupe TR ne sont cependant pas associées à des changements de tolérance au glucose (estimée par l'aire sous la courbe de glycémie du test OGTT) et de sensibilité à l'insuline globale (estimée par l'aire sur la courbe de glycémie du test ipITT) et musculaire (estimée par le rapport pPKB/PKB en réponse à une charge en insuline). Nous observons toutefois une diminution du rapport pPKB/PKB musculaire en conditions basales chez les rats du groupe TR par rapport à ceux du groupe CT, sans que cela soit associé à une diminution de l'insulinémie basale chez les petits nés de

mères entraînées par rapport à ceux nés de mères contrôles. Cela est peut-être dû à une altération de la transduction du signal insulinique induite par un stress oxydant lié à l'entraînement maternel et/ou la séparation maternelle. En effet, il a été montré que l'activation de PKB induite par l'insuline était dépendante de celles de la PI3K et de IRS-1, deux protéines très sensibles au stress oxydatif (Tirosh et al. 1999).

Si l'entraînement des mères et la séparation maternelle durant la lactation semblent impacter la descendance dans les premières semaines de vie, des effets à long terme semblent également se dégager. En effet, à l'âge de 7 mois, le poids corporel de la descendance issue de mères entraînées durant la lactation est significativement plus élevé que celui de la descendance issue de mères SH et tend à l'être par rapport à la descendance issue de mères CT. Cela semble lié au cumul d'une légère diminution du poids relatif des muscles et d'une légère augmentation de la masse adipeuse relative par rapport aux animaux des groupes CT et SH, sans que cela ne soit significatif. Nous avons également observé une augmentation du rapport pPKB/PKB dans le muscle de la descendance issue de mères entraînées en conditions basales par rapport à la descendance de mères CT et SH. Cela n'est cependant pas associé à une augmentation de l'insulinémie chez les animaux du groupe TR. On pourrait donc supposer que l'entraînement maternel ait induit une augmentation de la réponse à l'insuline en modulant sa voie de signalisation. Un tel processus a déjà été montré chez des rats qui, en réponse à un entraînement en endurance, présentaient une augmentation de la phosphorylation de IRS et de la PKB ainsi qu'une augmentation de l'activité de la PI3K dans le muscle et ce, pour une concentration d'insuline circulante similaire à celle de rats sédentaires (Luciano et al. 2002). L'augmentation du poids corporel des rats du groupe TR âgés de 7 mois ne semble pas affecter leur tolérance au glucose ni leur insulino-sensibilité globale et musculaire. La réduction de la glycémie et les modifications du pancréas observées chez les petits de mères entraînées âgés de 3 à 6 semaines ne sont donc pas associées à un changement de l'homéostasie du glucose à long terme, malgré l'augmentation de la prise de poids. Si la tendance à avoir un pancréas plus gros contenant moins d'insuline à l'âge de 3 semaines ne semble pas modifier le métabolisme des animaux nés de mères entraînées à l'âge de 7 mois, il n'en est pas de même pour ceux nés de mères SH. En effet, malgré une moindre prise de poids, il semble que la séparation maternelle soit associée à une insulino-résistance musculaire chez la descendance à l'âge adulte, comme le suggère le plus faible rapport

pPKB/PKB mesuré dans le muscle des animaux du groupe SH en réponse à une charge en insuline par rapport à ceux des groupes TR et CT. Cette résistance à l'insuline musculaire ne semble toutefois pas altérer la tolérance au glucose (attestée par l'aire sous la courbe durant le test OGTT) et la sensibilité à l'insuline globale (attestée par l'aire sur la courbe durant le test ipITT) des rats du groupe SH. Elle pourrait ainsi être compensée par une insulino-sensibilité normale au niveau du foie et du tissu adipeux.

Notre étude montre donc que l'exercice maternel sous-maximal durant la lactation tend à réduire la concentration en protéines dans le lait maternel et modifie sa répartition en acides gras en réduisant la proportion d'AGS en en augmentant celle d'AGPI et d'AGMI. Cet entraînement maternel est également associé à une modification de la fonction pancréatique et à une réduction de la glycémie de la descendance dans les premières semaines de vie. Toutefois, si certains changements du fonctionnement du pancréas sont directement liés à l'exercice maternel, d'autres, comme l'augmentation du poids du pancréas et la réduction de son contenu en insuline, semblent davantage liés à la séparation maternelle (seule ou liée à l'entraînement de la mère). L'entraînement maternel est également associé à une augmentation du poids corporel de la descendance avec l'âge. Cependant, il semble protéger la descendance de l'insulino-résistance musculaire induite par la séparation maternelle seule observée à l'âge de 7 mois. Par manque d'animaux, nous n'avons pas pu étudier la capacité sécrétoire des ilots chez les animaux âgés de 7 mois. Or, l'entraînement et la séparation maternelle ayant modifié la fonction pancréatique de la descendance à l'âge de 6 semaines, il serait intéressant de voir les effets à long terme de ceux-ci sur la sécrétion des ilots de la descendance. Notre étude est la première, à notre connaissance, à s'intéresser aux effets de l'exercice maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique de la descendance et ce, à court et à long terme. Elle complète les nombreux travaux menés dans le cadre des DOHaD et renforce l'idée que l'environnement lors des premières phases de la vie a des conséquences à plus ou moins long terme sur la santé.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les maladies métaboliques sont en pleine expansion dans nos sociétés actuelles et constituent un enjeu de santé publique majeur. Il est désormais reconnu que les facteurs étiologiques de ces désordres métaboliques sont d'ordres variés. L'environnement et les habitudes de vie de l'individu vont ainsi jouer un rôle dans sa susceptibilité à un certain nombre de maladies via la modulation de l'homéostasie énergétique. En parallèle, il a récemment été établi qu'un lien existait entre l'environnement lors des premières phases de la vie et la survenue de diverses pathologies à l'âge adulte (concept des DOHaD). La grande majorité des études conduites dans ce domaine se sont intéressées aux conséquences de la nutrition maternelle sur la santé future de l'enfant. Les rares études ayant exploré l'effet de l'exercice physique de la mère sur la descendance ont, pour la plupart, effectué des mesures uniquement sur les fœtus et les nouveau-nés. De plus, très peu d'entre elles ont étudié les conséquences de cet entraînement maternel sur la fonction pancréatique et l'homéostasie énergétique de la descendance.

L'objectif de cette thèse était donc d'étudier les conséquences de l'exercice physique maternel périnatal sur la santé métabolique de la descendance en utilisant un modèle animal permettant de bien contrôler les paramètres d'exercice que nous avons préalablement mis au point.

Dans un premier temps, nous avons cherché à caractériser les effets de l'exercice physique sous-maximal de la mère avant et pendant la gestation sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance. Notre première étude montre que l'exercice de la mère durant la gestation affecte la descendance mais avec des différences selon son âge. Il entraîne une sécrétion d'insuline par les îlots de la descendance inadaptée à la glycémie ambiante ainsi qu'une modification de la gestion des substrats énergétiques glucidiques et lipidiques. Ainsi, l'insulinémie des animaux issus de rates entraînées tend à être plus élevée par rapport à celle des animaux issus de rates sédentaires, que ce soit au sevrage ou à l'âge de 7 mois. De plus, la sécrétion d'insuline par les îlots pancréatiques est plus élevée chez les rats nés de mères entraînées par rapport à ceux nés de mères sédentaires au sevrage alors qu'elle tend à être réduite à l'âge de 7 mois. L'entraînement maternel serait également

associé à une moindre lipogenèse hépatique et à une modification de la phosphorylation de GSK3, une protéine impliquée dans la synthèse de glycogène, à tous les âges. Tout cela est par ailleurs associé à une réduction de l'activation de la voie de signalisation de l'insuline dans le muscle et à une intolérance au glucose de la descendance issue de mères entraînées âgée de 7 mois. Un tel exercice maternel pourrait donc augmenter la susceptibilité au diabète de type 2 de la descendance, et plus particulièrement en cas de sédentarité à l'âge adulte. Cela suggère que la pratique d'un exercice physique quotidien, particulièrement en fin de gestation, pourrait être délétère à long terme pour la descendance adulte.

Dans un deuxième temps, nous avons voulu voir les conséquences de cet exercice maternel sur la descendance lorsqu'elle se développe dans un contexte nutritionnel déséquilibré. Notre deuxième étude montre que l'entraînement maternel sous-maximal avant et pendant la gestation est associé à une réduction de la prise de poids de la descendance, qu'elle soit nourrie ou non avec un régime riche en graisses et en sucres. De plus, la descendance adulte issue de mères entraînées et soumise à un régime gras et sucré dès le sevrage montre une diminution de sa masse grasse. Les animaux issus de mères entraînées ont également une meilleure sensibilité à l'insuline musculaire comme le suggère l'évolution du rapport pPKB/PKB en réponse à une charge en insuline. L'exercice maternel est également associé à une amélioration de l'affinité des mitochondries du muscle squelettique pour les substrats lipidiques (PCoA) et glucidiques (pyruvate) chez la descendance. Cet effet de l'entraînement maternel durant la gestation serait toutefois dépendant de la nutrition car la consommation d'un régime gras et sucré de la descendance semble l'annuler. Ces résultats suggèrent que l'entraînement maternel durant la gestation aurait un effet positif à moyen terme sur la composition corporelle et la gestion des substrats énergétiques de la descendance adulte, qui vont varier en fonction de son alimentation.

Enfin, nous nous sommes intéressés aux conséquences de l'entraînement physique maternel lors de la lactation sur la fonction pancréatique et l'homéostasie du glucose de la descendance à plus ou moins long terme. Notre troisième étude montre que l'exercice maternel sous-maximal durant la lactation tend à augmenter la concentration en protéines dans le lait maternel et modifie sa proportion en acides gras en réduisant la proportion d'AGS et en augmentant celle d'acides gras insaturés. L'entraînement de la mère durant la lactation est également associé à une modification de la fonction

pancréatique et à une réduction de la glycémie de la descendance dans les premières semaines de vie. Toutefois, si certains changements du fonctionnement du pancréas sont directement liés à l'exercice maternel, d'autres, comme l'augmentation du poids du pancréas et la réduction de son contenu en insuline, semblent davantage liés à la séparation maternelle. L'entraînement de la mère est également associé à une augmentation du poids corporel de la descendance avec l'âge mais semble la protéger de l'insulino-résistance musculaire induite par la séparation maternelle à l'âge de 7 mois.

Ce travail de thèse est, à notre connaissance, le premier à s'intéresser aux effets de l'exercice maternel périnatal, avant et pendant la gestation ou durant la lactation, sur l'homéostasie du glucose, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance à plus ou moins long terme et dans des contextes nutritionnels variés. Il vient en complément de nombreux travaux menés dans le cadre des DOHaD et renforce l'idée que l'environnement lors des premières phases de la vie va avoir des conséquences à plus ou moins long terme sur la santé de l'individu. Nous avons montré que la pratique d'un exercice physique quotidien avant et pendant la gestation et/ou la lactation, ce qui pourrait être le cas de nombreuses sportives ou femmes actives, avait des conséquences sur le développement et la maturation de certains organes (pancréas, muscle, foie, tissu adipeux...) de la descendance ainsi que sur sa gestion des substrats énergétiques. Les conséquences de cet entraînement maternel vont évoluer avec l'avancée en âge de la descendance. Elles vont également dépendre de son environnement nutritionnel, comme montré dans notre deuxième étude. Il serait intéressant d'étudier l'effet d'un tel entraînement sur la descendance de mères préalablement sédentaires afin de les comparer à ceux obtenus dans ce travail. Cela permettrait éventuellement de distinguer et différencier les effets de l'entraînement maternel périnatal pratiqué par des mères préalablement sédentaires de ceux observés chez des mères déjà entraînées donc sportives ou actives. La prochaine étape de ce projet serait, dans un premier temps, de faire davantage de mesures enzymatiques et d'intermédiaires de voies de signalisations afin de compléter l'interprétation des données. Il serait ensuite intéressant de définir les mécanismes à l'origine des résultats obtenus, notamment grâce à une approche épigénétique. En effet, l'environnement, que ce soit pendant la grossesse ou après la naissance, peut modifier la fonction du génome et l'expression de certains gènes sans changer la séquence de l'ADN (Sosa-Larios et al. 2015). Ces modifications de l'expression génique sont en partie transmissibles et

peuvent se transmettre aux générations suivantes. Nous supposons que dans nos études, le protocole d'entraînement maternel utilisé a pu modifier l'expression de certains gènes des rats, avec des conséquences potentielles sur les générations futures. Les gènes potentiellement méthylés et/ou acétylés par l'exercice de la mère pourraient être ceux impliqués dans le métabolisme tels que PGC1 α , TFAM, MEF2A, PDK4, PPAR α , UCP1 ou encore Glut4. Il serait également intéressant d'explorer les éventuelles modifications de l'expression de l'Hexokinase II, de l'ATP synthétase b et de CPT1, impliqués dans le métabolisme mitochondrial musculaire et la méthylation du promoteur Pdx1 dans les ilots pancréatiques. Ces travaux pourraient contribuer à affiner les recommandations en termes d'activité physique chez la femme sportive ou active, enceinte et allaitante, comme le recommande l'OMS, en vue de l'optimisation de la santé de la descendance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akhavan, M. M., M. Emami-Abarghoie, et al. (2008). "Serotonergic and noradrenergic lesions suppress the enhancing effect of maternal exercise during pregnancy on learning and memory in rat pups." Neuroscience **151**(4): 1173-1183.
- Alvarsson, M., S. Efendic, et al. (1994). "Insulin responses to glucose in healthy males are associated with adult height but not with birth weight." J Intern Med **236**(3): 275-279.
- American Diabetes Association (2010). "Diagnosis and classification of diabetes mellitus." Diabetes Care **33 Suppl 1**: S62-69.
- American Diabetes Association (2015). "Management of diabetes in pregnancy." Diabetes Care **38 Suppl**: S77-79.
- Ammon, H. P., C. Glocker, et al. (1989). "Insulin release from pancreatic islets of fetal rats mediated by leucine b-BCH, tolbutamide, glibenclamide, arginine, potassium chloride, and theophylline does not require stimulation of Ca²⁺ net uptake." Cell Calcium **10**(6): 441-450.
- An, Y., W. Xu, et al. (2013). "High-fat diet induces dynamic metabolic alterations in multiple biological matrices of rats." J Proteome Res **12**(8): 3755-3768.
- Ananth, C. V. and S. W. Wen (2002). "Trends in fetal growth among singleton gestations in the United States and Canada, 1985 through 1998." Semin Perinatol **26**(4): 260-267.
- Anderson, N. K., K. A. Beerman, et al. (2005). "Dietary fat type influences total milk fat content in lean women." J Nutr **135**(3): 416-421.
- Artal, R. (2003). "Exercise: the alternative therapeutic intervention for gestational diabetes." Clin Obstet Gynecol **46**(2): 479-487.
- Artal, R., R. B. Catanzaro, et al. (2007). "A lifestyle intervention of weight-gain restriction: diet and exercise in obese women with gestational diabetes mellitus." Appl Physiol Nutr Metab **32**(3): 596-601.
- Artal, R., D. I. Masaki, et al. (1989). "Exercise prescription in pregnancy: weight-bearing versus non-weight-bearing exercise." Am J Obstet Gynecol **161**(6 Pt 1): 1464-1469.
- Avery, M. D., A. S. Leon, et al. (1997). "Effects of a partially home-based exercise program for women with gestational diabetes." Obstet Gynecol **89**(1): 10-15.
- Avery, M. D. and A. J. Walker (2001). "Acute effect of exercise on blood glucose and insulin levels in women with gestational diabetes." J Matern Fetal Med **10**(1): 52-58.
- Bahls, M., R. D. Sheldon, et al. (2014). "Mother's exercise during pregnancy programmes vasomotor function in adult offspring." Exp Physiol **99**(1): 205-219.
- Bannister, A. J. and T. Kouzarides (2011). "Regulation of chromatin by histone modifications." Cell Res **21**(3): 381-395.
- Barakat, R., A. Lucia, et al. (2009). "Resistance exercise training during pregnancy and newborn's birth size: a randomised controlled trial." Int J Obes (Lond) **33**(9): 1048-1057.

- Barakat, R., M. Pelaez, et al. (2013). "Exercise during pregnancy and gestational diabetes-related adverse effects: a randomised controlled trial." Br J Sports Med **47**(10): 630-636.
- Barakat, R., M. Perales, et al. (2015). "Exercise during pregnancy. A narrative review asking: what do we know?" Br J Sports Med **49**(21): 1377-1381.
- Barker, D. J. (1998). "In utero programming of chronic disease." Clin Sci (Lond) **95**(2): 115-128.
- Barker, D. J., A. R. Bull, et al. (1990). "Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life." BMJ **301**(6746): 259-262.
- Barker, D. J., K. M. Godfrey, et al. (1992). "The relation of fetal length, ponderal index and head circumference to blood pressure and the risk of hypertension in adult life." Paediatr Perinat Epidemiol **6**(1): 35-44.
- Barker, D. J., C. N. Hales, et al. (1993). "Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth." Diabetologia **36**(1): 62-67.
- Barker, D. J. and C. Osmond (1986). "Diet and coronary heart disease in England and Wales during and after the second world war." J Epidemiol Community Health **40**(1): 37-44.
- Barker, D. J. and C. Osmond (1986). "Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales." Lancet **1**(8489): 1077-1081.
- Barker, D. J., C. Osmond, et al. (1989). "Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease." BMJ **298**(6673): 564-567.
- Barker, D. J., C. Osmond, et al. (1993). "The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life." BMJ **306**(6875): 422-426.
- Bartel, D. P. (2009). "MicroRNAs: target recognition and regulatory functions." Cell **136**(2): 215-233.
- Beaugerie, L. and H. Sokol (2014). "Les fondamentaux de la pathologie digestive."
- Bedford, T. G., C. M. Tipton, et al. (1979). "Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures." J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol **47**(6): 1278-1283.
- Bell, J. T. and T. D. Spector (2011). "A twin approach to unraveling epigenetics." Trends Genet **27**(3): 116-125.
- Berger, S. L., T. Kouzarides, et al. (2009). "An operational definition of epigenetics." Genes Dev **23**(7): 781-783.
- Bernard, J. Y., M. Armand, et al. (2015). "The association between linoleic acid levels in colostrum and child cognition at 2 and 3 y in the EDEN cohort." Pediatr Res **77**(6): 829-835.
- Berney, D. M., M. Desai, et al. (1997). "The effects of maternal protein deprivation on the fetal rat pancreas: major structural changes and their recuperation." J Pathol **183**(1): 109-115.

- Bessinger, R. C. and R. G. McMurray (2003). "Substrate utilization and hormonal responses to exercise in pregnancy." Clin Obstet Gynecol **46**(2): 467-478.
- Bird, A. (2007). "Perceptions of epigenetics." Nature **447**(7143): 396-398.
- Blaize, A. N., E. Breslin, et al. (2015). "Maternal Exercise Does Not Significantly Alter Adult Rat Offspring Vascular Function." Med Sci Sports Exerc **47**(11): 2340-2346.
- Blaize, A. N., K. J. Pearson, et al. (2015). "Impact of Maternal Exercise during Pregnancy on Offspring Chronic Disease Susceptibility." Exerc Sport Sci Rev **43**(4): 198-203.
- Bliss, C. R. and G. W. Sharp (1992). "Glucose-induced insulin release in islets of young rats: time-dependent potentiation and effects of 2-bromostearate." Am J Physiol **263**(5 Pt 1): E890-896.
- Bo, K., R. Artal, et al. (2016). "Exercise and pregnancy in recreational and elite athletes: 2016 evidence summary from the IOC expert group meeting, Lausanne. Part 1-exercise in women planning pregnancy and those who are pregnant." Br J Sports Med **50**(10): 571-589.
- Boney, C. M., A. Verma, et al. (2005). "Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus." Pediatrics **115**(3): e290-296.
- Boschero, A. C., S. Bordin, et al. (1992). "Effect of glucose and K⁺ depolarization on cytosolic free Ca²⁺ in cultured neonatal islets." Horm Metab Res **24**(2): 51-52.
- Bouskila, M., M. F. Hirshman, et al. (2008). "Insulin promotes glycogen synthesis in the absence of GSK3 phosphorylation in skeletal muscle." Am J Physiol Endocrinol Metab **294**(1): E28-35.
- Brenner, B. M. and G. M. Chertow (1994). "Congenital oligonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury." Am J Kidney Dis **23**(2): 171-175.
- Brenner, B. M., D. L. Garcia, et al. (1988). "Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other?" Am J Hypertens **1**(4 Pt 1): 335-347.
- Brisson, D. (2003). "The directed mutation controversy in an evolutionary context." Crit Rev Microbiol **29**(1): 25-35.
- Brockman, D. A., X. Chen, et al. (2014). "High-viscosity dietary fibers reduce adiposity and decrease hepatic steatosis in rats fed a high-fat diet." J Nutr **144**(9): 1415-1422.
- Bruce, C. R., C. Brolin, et al. (2007). "Overexpression of carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle in vivo increases fatty acid oxidation and reduces triacylglycerol esterification." Am J Physiol Endocrinol Metab **292**(4): E1231-1237.
- Buchanan, T. A., B. E. Metzger, et al. (1990). "Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderately obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes." Am J Obstet Gynecol **162**(4): 1008-1014.
- Camarillo, I. G., L. Clah, et al. (2014). "Maternal exercise during pregnancy reduces risk of mammary tumorigenesis in rat offspring." Eur J Cancer Prev **23**(6): 502-505.

- Campbell, D. M., M. H. Hall, et al. (1996). "Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later." Br J Obstet Gynaecol **103**(3): 273-280.
- Cao, S., B. Li, et al. (2012). "Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes." PLoS One **7**(12): e51709.
- Capeau (2003). "Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance." Médecine/Sciences **19**.
- Capra, L., G. Tezza, et al. (2013). "The origins of health and disease: the influence of maternal diseases and lifestyle during gestation." Ital J Pediatr **39**: 7.
- Carter, J. D., S. B. Dula, et al. (2009). "A practical guide to rodent islet isolation and assessment." Biol Proced Online **11**: 3-31.
- Carter, L. G., K. N. Lewis, et al. (2012). "Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring." Am J Physiol Endocrinol Metab **303**(8): E1061-1068.
- Carter, L. G., N. R. Qi, et al. (2013). "Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring." Med Sci Sports Exerc **45**(5): 832-840.
- Catalano, P. M. and H. M. Ehrenberg (2006). "The short- and long-term implications of maternal obesity on the mother and her offspring." BJOG **113**(10): 1126-1133.
- Chahoud, I. and F. J. Paumgartten (2009). "Influence of litter size on the postnatal growth of rat pups: is there a rationale for litter-size standardization in toxicity studies?" Environ Res **109**(8): 1021-1027.
- Chang, L., S. H. Chiang, et al. (2004). "Insulin signaling and the regulation of glucose transport." Mol Med **10**(7-12): 65-71.
- Charles, M. A. and C. Junien (2012). "Les origines développementales de la santé (DOHaD) et l'épigénétique - Une révolution pour la prévention des maladies chroniques de l'adulte." Questions de santé publique n°18.
- Cherif, H., B. Reusens, et al. (1998). "Effects of taurine on the insulin secretion of rat fetal islets from dams fed a low-protein diet." J Endocrinol **159**(2): 341-348.
- Cho, H., J. Mu, et al. (2001). "Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta)." Science **292**(5522): 1728-1731.
- Cho, J., I. Lee, et al. (2014). "Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice." J Exerc Nutrition Biochem **18**(4): 339-346.
- Clapp, J. F. (2006). "Influence of endurance exercise and diet on human placental development and fetal growth." Placenta **27**(6-7): 527-534.
- Clapp, J. F., 3rd (1991). "Exercise and fetal health." J Dev Physiol **15**(1): 9-14.
- Clapp, J. F., 3rd (1996). "Morphometric and neurodevelopmental outcome at age five years of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy." J Pediatr **129**(6): 856-863.
- Clapp, J. F., 3rd (2002). "Maternal carbohydrate intake and pregnancy outcome." Proc Nutr Soc **61**(1): 45-50.
- Clapp, J. F., 3rd (2003). "The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and fetoplacental growth." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **110 Suppl 1**: S80-85.

- Clapp, J. F., 3rd and E. L. Capeless (1990). "Neonatal morphometrics after endurance exercise during pregnancy." Am J Obstet Gynecol **163**(6 Pt 1): 1805-1811.
- Clapp, J. F., 3rd, H. Kim, et al. (2000). "Beginning regular exercise in early pregnancy: effect on fetoplacental growth." Am J Obstet Gynecol **183**(6): 1484-1488.
- Clapp, J. F., 3rd, H. Kim, et al. (2002). "Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth." Am J Obstet Gynecol **186**(1): 142-147.
- Clapp, J. F., 3rd and K. H. Rizk (1992). "Effect of recreational exercise on midtrimester placental growth." Am J Obstet Gynecol **167**(6): 1518-1521.
- Clapp, J. F., 3rd, S. Simonian, et al. (1998). "The one-year morphometric and neurodevelopmental outcome of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy." Am J Obstet Gynecol **178**(3): 594-599.
- Clark, P. M., C. Atton, et al. (1998). "Weight gain in pregnancy, triceps skinfold thickness, and blood pressure in offspring." Obstet Gynecol **91**(1): 103-107.
- Coelho, D. F., L. O. Pereira-Lancha, et al. (2011). "Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters." Braz J Med Biol Res **44**(10): 966-972.
- Cookson, H., R. Granell, et al. (2009). "Mothers' anxiety during pregnancy is associated with asthma in their children." J Allergy Clin Immunol **123**(4): 847-853 e811.
- Cordero, Y., M. F. Mottola, et al. (2015). "Exercise Is Associated with a Reduction in Gestational Diabetes Mellitus." Med Sci Sports Exerc **47**(7): 1328-1333.
- Dahri, S., A. Snoeck, et al. (1991). "Islet function in offspring of mothers on low-protein diet during gestation." Diabetes **40 Suppl 2**: 115-120.
- Dayi, A., S. Agilkaya, et al. (2012). "Maternal aerobic exercise during pregnancy can increase spatial learning by affecting leptin expression on offspring's early and late period in life depending on gender." ScientificWorldJournal **2012**: 429803.
- De Prins, F. A. and F. A. Van Assche (1982). "Intrauterine growth retardation and development of endocrine pancreas in the experimental rat." Biol Neonate **41**(1-2): 16-21.
- DeFronzo, R. A. and D. Tripathy (2009). "Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes." Diabetes Care **32 Suppl 2**: S157-163.
- Dempsey, J. C., C. L. Butler, et al. (2004). "A case-control study of maternal recreational physical activity and risk of gestational diabetes mellitus." Diabetes Res Clin Pract **66**(2): 203-215.
- Drews, G., P. Krippeit-Drews, et al. (2010). "Oxidative stress and beta-cell dysfunction." Pflugers Arch **460**(4): 703-718.
- Dyck, R., H. Klomp, et al. (2002). "A comparison of rates, risk factors, and outcomes of gestational diabetes between aboriginal and non-aboriginal women in the Saskatoon health district." Diabetes Care **25**(3): 487-493.
- Eclarinal, J. D., S. Zhu, et al. (2016). "Maternal exercise during pregnancy promotes physical activity in adult offspring." FASEB J.

- Eidelman, A. I. and A. Samueloff (2002). "The pathophysiology of the fetus of the diabetic mother." Semin Perinatol **26**(3): 232-236.
- Eriksson, J. G., T. Forsen, et al. (1999). "Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study." BMJ **318**(7181): 427-431.
- Evenson, K. R., R. Barakat, et al. (2014). "Guidelines for Physical Activity during Pregnancy: Comparisons From Around the World." Am J Lifestyle Med **8**(2): 102-121.
- Farquharson, J., E. C. Jamieson, et al. (1995). "Effect of diet on the fatty acid composition of the major phospholipids of infant cerebral cortex." Arch Dis Child **72**(3): 198-203.
- Fédération Internationale du diabète (2013). "Atlas du Diabète de la FID." **6ème édition**.
- Feig, D. S., B. Zinman, et al. (2008). "Risk of development of diabetes mellitus after diagnosis of gestational diabetes." CMAJ **179**(3): 229-234.
- Fields, D. A. and E. W. Demerath (2012). "Relationship of insulin, glucose, leptin, IL-6 and TNF-alpha in human breast milk with infant growth and body composition." Pediatr Obes **7**(4): 304-312.
- Fladeby, C., R. Skar, et al. (2003). "Distinct regulation of glucose transport and GLUT1/GLUT3 transporters by glucose deprivation and IGF-I in chromaffin cells." Biochim Biophys Acta **1593**(2-3): 201-208.
- Forrester, T. E., R. J. Wilks, et al. (1996). "Fetal growth and cardiovascular risk factors in Jamaican schoolchildren." BMJ **312**(7024): 156-160.
- Forsen, T., J. G. Eriksson, et al. (1997). "Mother's weight in pregnancy and coronary heart disease in a cohort of Finnish men: follow up study." BMJ **315**(7112): 837-840.
- Frankel, S., P. Elwood, et al. (1996). "Birthweight, adult risk factors and incident coronary heart disease: the Caerphilly Study." Public Health **110**(3): 139-143.
- Frankel, S., P. Elwood, et al. (1996). "Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary heart disease." Lancet **348**(9040): 1478-1480.
- Freemark, M. (2006). "Regulation of maternal metabolism by pituitary and placental hormones: roles in fetal development and metabolic programming." Horm Res **65 Suppl 3**: 41-49.
- Garcia-Patterson, A., E. Martin, et al. (2001). "Evaluation of light exercise in the treatment of gestational diabetes." Diabetes Care **24**(11): 2006-2007.
- Garofano, A., P. Czernichow, et al. (1997). "In utero undernutrition impairs rat beta-cell development." Diabetologia **40**(10): 1231-1234.
- Gennser, G., P. Rymark, et al. (1988). "Low birth weight and risk of high blood pressure in adulthood." Br Med J (Clin Res Ed) **296**(6635): 1498-1500.
- Georgieff, M. K. (2006). "The effect of maternal diabetes during pregnancy on the neurodevelopment of offspring." Minn Med **89**(3): 44-47.
- Gerozissis, K. (2003). "Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions." Cell Mol Neurobiol **23**(1): 1-25.

- Ghosh, P., D. Bitsanis, et al. (2001). "Abnormal aortic fatty acid composition and small artery function in offspring of rats fed a high fat diet in pregnancy." J Physiol **533**(Pt 3): 815-822.
- Gillman, M. W., J. W. Rich-Edwards, et al. (2006). "Maternal corticotropin-releasing hormone levels during pregnancy and offspring adiposity." Obesity (Silver Spring) **14**(9): 1647-1653.
- Gluckman, P. D. and M. A. Hanson (2004). "The developmental origins of the metabolic syndrome." Trends Endocrinol Metab **15**(4): 183-187.
- Gnoni, A. and A. M. Giudetti (2016). "Dietary long-chain unsaturated fatty acids acutely and differently reduce the activities of lipogenic enzymes and of citrate carrier in rat liver." J Physiol Biochem.
- Godfrey, K. M., T. Forrester, et al. (1994). "Maternal nutritional status in pregnancy and blood pressure in childhood." Br J Obstet Gynaecol **101**(5): 398-403.
- Godfrey, K. M., K. A. Lillycrop, et al. (2007). "Epigenetic mechanisms and the mismatch concept of the developmental origins of health and disease." Pediatr Res **61**(5 Pt 2): 5R-10R.
- Goll, M. G. and T. H. Bestor (2005). "Eukaryotic cytosine methyltransferases." Annu Rev Biochem **74**: 481-514.
- Gross, D. N., A. P. van den Heuvel, et al. (2008). "The role of FoxO in the regulation of metabolism." Oncogene **27**(16): 2320-2336.
- Grynberg, A. and L. Demaison (1996). "Fatty acid oxidation in the heart." J Cardiovasc Pharmacol **28 Suppl 1**: S11-17.
- Guidotti, S., I. Jonas, et al. (2013). "High-saturated fat-sucrose feeding affects lactation energetics in control mice and mice selectively bred for high wheel-running behavior." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **305**(12): R1433-1440.
- Gutkowska, J., A. Paquette, et al. (2007). "Effect of exercise training on cardiac oxytocin and natriuretic peptide systems in ovariectomized rats." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **293**(1): R267-275.
- Haig, D. (2004). "The (dual) origin of epigenetics." Cold Spring Harb Symp Quant Biol **69**: 67-70.
- Hales, C. N. and D. J. Barker (1992). "Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis." Diabetologia **35**(7): 595-601.
- Hales, C. N. and D. J. Barker (2001). "The thrifty phenotype hypothesis." Br Med Bull **60**: 5-20.
- Hales, C. N., D. J. Barker, et al. (1991). "Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64." BMJ **303**(6809): 1019-1022.
- Hamid, H. Y., M. Z. Abu Bakar Zakaria, et al. (2012). "Effects of elevated ambient temperature on reproductive outcomes and offspring growth depend on exposure time." ScientificWorldJournal **2012**: 359134.
- Hanson, M. A. and P. D. Gluckman (2014). "Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology?" Physiol Rev **94**(4): 1027-1076.

- Harpsoe, M. C., S. Basit, et al. (2013). "Maternal obesity, gestational weight gain, and risk of asthma and atopic disease in offspring: a study within the Danish National Birth Cohort." J Allergy Clin Immunol **131**(4): 1033-1040.
- Harris, W. S., W. E. Connor, et al. (1984). "Will dietary omega-3 fatty acids change the composition of human milk?" Am J Clin Nutr **40**(4): 780-785.
- Hauton, D., A. Al-Shammari, et al. (2015). "Maternal hypoxia decreases capillary supply and increases metabolic inefficiency leading to divergence in myocardial oxygen supply and demand." PLoS One **10**(6): e0127424.
- Hawley, J. A. and S. J. Lessard (2008). "Exercise training-induced improvements in insulin action." Acta Physiol (Oxf) **192**(1): 127-135.
- Hellerstein, M. K. (1999). "De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects." Eur J Clin Nutr **53 Suppl 1**: S53-65.
- Hinchliffe, S. A., M. R. Lynch, et al. (1992). "The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons." Br J Obstet Gynaecol **99**(4): 296-301.
- Hoet, J. J., S. Dahri, et al. (1992). "[Importance of diets and their effect on fetal development: function and structure of the endocrine pancreas following protein deficiency during intrauterine life]." Bull Mem Acad R Med Belg **147**(3-5): 174-181; discussion 181-173.
- Hoet, J. J. and M. A. Hanson (1999). "Intrauterine nutrition: its importance during critical periods for cardiovascular and endocrine development." J Physiol **514 (Pt 3)**: 617-627.
- Holemans, K., J. Verhaeghe, et al. (1996). "Insulin sensitivity in adult female rats subjected to malnutrition during the perinatal period." J Soc Gynecol Investig **3**(2): 71-77.
- Holloszy, J. O. and E. F. Coyle (1984). "Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences." J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol **56**(4): 831-838.
- Hopkins, S. A., J. C. Baldi, et al. (2010). "Exercise training in pregnancy reduces offspring size without changes in maternal insulin sensitivity." J Clin Endocrinol Metab **95**(5): 2080-2088.
- Hopkins, S. A. and W. S. Cutfield (2011). "Exercise in pregnancy: weighing up the long-term impact on the next generation." Exerc Sport Sci Rev **39**(3): 120-127.
- Houmard, J. A., C. J. Tanner, et al. (2004). "Effect of the volume and intensity of exercise training on insulin sensitivity." J Appl Physiol (1985) **96**(1): 101-106.
- Huang, H. H., L. Novikova, et al. (2011). "Low insulin content of large islet population is present in situ and in isolated islets." Islets **3**(1): 6-13.
- Hulman, S., H. Kushner, et al. (1998). "Can cardiovascular risk be predicted by newborn, childhood, and adolescent body size? An examination of longitudinal data in urban African Americans." J Pediatr **132**(1): 90-97.
- Illingworth, R. S. and A. P. Bird (2009). "CpG islands--'a rough guide'." FEBS Lett **583**(11): 1713-1720.

- Innes, K. E., T. E. Byers, et al. (2002). "Association of a woman's own birth weight with subsequent risk for gestational diabetes." JAMA **287**(19): 2534-2541.
- Innis, S. M. (2011). "Metabolic programming of long-term outcomes due to fatty acid nutrition in early life." Matern Child Nutr **7 Suppl 2**: 112-123.
- Innis, S. M. (2014). "Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants." Am J Clin Nutr **99**(3): 734S-741S.
- Jackson, A. A., R. L. Dunn, et al. (2002). "Increased systolic blood pressure in rats induced by a maternal low-protein diet is reversed by dietary supplementation with glycine." Clin Sci (Lond) **103**(6): 633-639.
- Jackson, M. R., P. Gott, et al. (1995). "The effects of maternal aerobic exercise on human placental development: placental volumetric composition and surface areas." Placenta **16**(2): 179-191.
- Jang, E. A., L. D. Longo, et al. (2015). "Antenatal maternal hypoxia: criterion for fetal growth restriction in rodents." Front Physiol **6**: 176.
- Johnson, J. S., R. L. Boddicker, et al. (2013). "Effects of mammalian in utero heat stress on adolescent body temperature." Int J Hyperthermia **29**(7): 696-702.
- Jolly, M., N. Sebire, et al. (2000). "The risks associated with pregnancy in women aged 35 years or older." Hum Reprod **15**(11): 2433-2437.
- Jovanovic-Peterson, L., E. P. Durak, et al. (1989). "Randomized trial of diet versus diet plus cardiovascular conditioning on glucose levels in gestational diabetes." Am J Obstet Gynecol **161**(2): 415-419.
- Judge, C. M., L. Chasan-Taber, et al. (2004). "Physical exposures during pregnancy and congenital cardiovascular malformations." Paediatr Perinat Epidemiol **18**(5): 352-360.
- Jung S., K. K. (2014). "Exercise-induced PGC-1 α transcriptional factors in skeletal muscle." Integrative Medicine Research **3**(4): 6.
- Kajimoto, Y. and H. Kaneto (2004). "Role of oxidative stress in pancreatic beta-cell dysfunction." Ann N Y Acad Sci **1011**: 168-176.
- Kaneto, H., D. Kawamori, et al. (2005). "Oxidative stress and pancreatic beta-cell dysfunction." Am J Ther **12**(6): 529-533.
- Karakelides, H., B. A. Irving, et al. (2010). "Age, obesity, and sex effects on insulin sensitivity and skeletal muscle mitochondrial function." Diabetes **59**(1): 89-97.
- Kelly, S. A., K. Hua, et al. (2015). "Maternal exercise before and during pregnancy does not impact offspring exercise or body composition in mice." J Negat Results Biomed **14**: 13.
- Kersten, S. (2001). "Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis." EMBO Rep **2**(4): 282-286.
- King, J. C. (2006). "Maternal obesity, metabolism, and pregnancy outcomes." Annu Rev Nutr **26**: 271-291.
- Kouzarides, T. (2007). "Chromatin modifications and their function." Cell **128**(4): 693-705.

- Kraniou, G. N., D. Cameron-Smith, et al. (2006). "Acute exercise and GLUT4 expression in human skeletal muscle: influence of exercise intensity." J Appl Physiol (1985) **101**(3): 934-937.
- Kuznetsov, A. V., V. Veksler, et al. (2008). "Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells." Nat Protoc **3**(6): 965-976.
- Kwong, W. Y., A. E. Wild, et al. (2000). "Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension." Development **127**(19): 4195-4202.
- Lafontan M, L. D. (1999). "Régulation neuro-humorale de la lipolyse : aspects physiologiques et physiopathologiques." médecine/sciences **14**.
- Lahaye Sle, D., A. Gratas-Delamarche, et al. (2010). "Intense exercise training induces adaptation in expression and responsiveness of cardiac beta-adrenoceptors in diabetic rats." Cardiovasc Diabetol **9**: 72.
- Laker, R. C., T. S. Lillard, et al. (2014). "Exercise prevents maternal high-fat diet-induced hypermethylation of the Pgc-1alpha gene and age-dependent metabolic dysfunction in the offspring." Diabetes **63**(5): 1605-1611.
- Langley-Evans, S. C. (2001). "Fetal programming of cardiovascular function through exposure to maternal undernutrition." Proc Nutr Soc **60**(4): 505-513.
- Langley-Evans, S. C., S. J. Welham, et al. (1999). "Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat." Life Sci **64**(11): 965-974.
- Langley-Evans, S. C., S. J. Welham, et al. (1996). "Weanling rats exposed to maternal low-protein diets during discrete periods of gestation exhibit differing severity of hypertension." Clin Sci (Lond) **91**(5): 607-615.
- Langley, S. C. and A. A. Jackson (1994). "Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets." Clin Sci (Lond) **86**(2): 217-222; discussion 121.
- Laplante, M. and D. M. Sabatini (2010). "mTORC1 activates SREBP-1c and uncouples lipogenesis from gluconeogenesis." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(8): 3281-3282.
- Laughlin, M. H., S. C. Newcomer, et al. (2008). "Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype." J Appl Physiol (1985) **104**(3): 588-600.
- Law, C. M., G. S. Gordon, et al. (1995). "Thinness at birth and glucose tolerance in seven-year-old children." Diabet Med **12**(1): 24-29.
- Law, C. M. and A. W. Shiell (1996). "Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systematic review of the literature." J Hypertens **14**(8): 935-941.
- Lawlor, D. A., D. A. Leon, et al. (2005). "The association of ambient outdoor temperature throughout pregnancy and offspring birthweight: findings from the Aberdeen Children of the 1950s cohort." BJOG **112**(5): 647-657.
- Lawlor, D. A., J. M. Najman, et al. (2004). "Associations of parental, birth, and early life characteristics with systolic blood pressure at 5 years of age: findings from the

- Mater-University study of pregnancy and its outcomes." Circulation **110**(16): 2417-2423.
- Lee, J. and P. F. Pilch (1994). "The insulin receptor: structure, function, and signaling." Am J Physiol **266**(2 Pt 1): C319-334.
- Lee, S. and S. L. Kelleher (2016). "Biological underpinnings of breastfeeding challenges: the role of genetics, diet, and environment on lactation physiology." Am J Physiol Endocrinol Metab **311**(2): E405-422.
- Leermakers, E. T., A. M. Sonnenschein-van der Voort, et al. (2013). "Maternal weight, gestational weight gain and preschool wheezing: the Generation R Study." Eur Respir J **42**(5): 1234-1243.
- Leger, J., C. Levy-Marchal, et al. (1997). "Reduced final height and indications for insulin resistance in 20 year olds born small for gestational age: regional cohort study." BMJ **315**(7104): 341-347.
- Lenski, R. E. and J. E. Mittler (1993). "The directed mutation controversy and neo-Darwinism." Science **259**(5092): 188-194.
- Leon, D. A., M. Johansson, et al. (2000). "Gestational age and growth rate of fetal mass are inversely associated with systolic blood pressure in young adults: an epidemiologic study of 165,136 Swedish men aged 18 years." Am J Epidemiol **152**(7): 597-604.
- Leon, D. A., I. Koupilova, et al. (1996). "Failure to realise growth potential in utero and adult obesity in relation to blood pressure in 50 year old Swedish men." BMJ **312**(7028): 401-406.
- Leon, D. A., H. O. Lithell, et al. (1998). "Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29." BMJ **317**(7153): 241-245.
- Lesser, K. B. and M. W. Carpenter (1994). "Metabolic changes associated with normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus." Semin Perinatol **18**(5): 399-406.
- Lesser, K. B., P. A. Gruppuso, et al. (1996). "Exercise fails to improve postprandial glycemic excursion in women with gestational diabetes." J Matern Fetal Med **5**(4): 211-217.
- Lithell, H. O., P. M. McKeigue, et al. (1996). "Relation of size at birth to non-insulin dependent diabetes and insulin concentrations in men aged 50-60 years." BMJ **312**(7028): 406-410.
- Luciano, E., E. M. Carneiro, et al. (2002). "Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway." Eur J Endocrinol **147**(1): 149-157.
- Magnan (2005). "Production and secretion of insulin by the pancreatic B-cell." EMC-Endocrinologie.
- Makrides, M., M. A. Neumann, et al. (1994). "Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants." Am J Clin Nutr **60**(2): 189-194.

- Manalich, R., L. Reyes, et al. (2000). "Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study." *Kidney Int* **58**(2): 770-773.
- Manning, J. and V. M. Vehaskari (2001). "Low birth weight-associated adult hypertension in the rat." *Pediatr Nephrol* **16**(5): 417-422.
- Margetts, B. M., M. G. Rowland, et al. (1991). "The relation of maternal weight to the blood pressures of Gambian children." *Int J Epidemiol* **20**(4): 938-943.
- Martin, M. A., W. D. Lassek, et al. (2012). "Fatty acid composition in the mature milk of Bolivian forager-horticulturalists: controlled comparisons with a US sample." *Matern Child Nutr* **8**(3): 404-418.
- Martinez-Zamudio, R. and H. C. Ha (2011). "Environmental epigenetics in metal exposure." *Epigenetics* **6**(7): 820-827.
- Martyn, C. N., D. J. Barker, et al. (1996). "Mothers' pelvic size, fetal growth, and death from stroke and coronary heart disease in men in the UK." *Lancet* **348**(9037): 1264-1268.
- Matsuno, A. Y., K. L. Esrey, et al. (1999). "Low intensity exercise and varying proportions of dietary glucose and fat modify milk and mammary gland compositions and pup growth." *J Nutr* **129**(6): 1167-1175.
- Matsuzaki, H., H. Daitoku, et al. (2003). "Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation." *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(20): 11285-11290.
- May, L. E., A. Glaros, et al. (2010). "Aerobic exercise during pregnancy influences fetal cardiac autonomic control of heart rate and heart rate variability." *Early Hum Dev* **86**(4): 213-217.
- May, L. E., R. R. Suminski, et al. (2012). "Regular maternal exercise dose and fetal heart outcome." *Med Sci Sports Exerc* **44**(7): 1252-1258.
- McCance, D. R., D. J. Pettitt, et al. (1994). "Birth weight and non-insulin dependent diabetes: thrifty genotype, thrifty phenotype, or surviving small baby genotype?" *BMJ* **308**(6934): 942-945.
- McManus, E. J. and D. R. Alessi (2002). "TSC1-TSC2: a complex tale of PKB-mediated S6K regulation." *Nat Cell Biol* **4**(9): E214-216.
- McMillen, I. C. and J. S. Robinson (2005). "Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming." *Physiol Rev* **85**(2): 571-633.
- Meek, S. E., M. Persson, et al. (1998). "Differential regulation of amino acid exchange and protein dynamics across splanchnic and skeletal muscle beds by insulin in healthy human subjects." *Diabetes* **47**(12): 1824-1835.
- Mendez, L., M. Pazos, et al. (2014). "Protein carbonylation associated to high-fat, high-sucrose diet and its metabolic effects." *J Nutr Biochem* **25**(12): 1243-1253.
- Mihaylova, M. M. and R. J. Shaw (2011). "The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism." *Nat Cell Biol* **13**(9): 1016-1023.
- Milunsky, A., M. Ulcickas, et al. (1992). "Maternal heat exposure and neural tube defects." *JAMA* **268**(7): 882-885.

- Mottola, M. F. (2008). "The role of exercise in the prevention and treatment of gestational diabetes mellitus." Curr Diab Rep **8**(4): 299-304.
- Mottola, M. F. and R. Artal (2016). "Fetal and maternal metabolic responses to exercise during pregnancy." Early Hum Dev **94**: 33-41.
- Mottola, M. F. and R. Artal (2016). "Role of Exercise in Reducing Gestational Diabetes Mellitus." Clin Obstet Gynecol.
- Mottola, M. F., S. Inglis, et al. (2013). "Physiological and metabolic responses of late pregnant women to 40 min of steady-state exercise followed by an oral glucose tolerance perturbation." J Appl Physiol (1985) **115**(5): 597-604.
- Muranishi, Y., L. Parry, et al. (2016). "Method for collecting mouse milk without exogenous oxytocin stimulation." Biotechniques **60**(1): 47-49.
- Nakajima, S., T. Hira, et al. (2015). "Postprandial glucagon-like peptide-1 secretion is increased during the progression of glucose intolerance and obesity in high-fat/high-sucrose diet-fed rats." Br J Nutr **113**(9): 1477-1488.
- Nascimento, E. B., M. Fodor, et al. (2006). "Insulin-mediated phosphorylation of the proline-rich Akt substrate PRAS40 is impaired in insulin target tissues of high-fat diet-fed rats." Diabetes **55**(12): 3221-3228.
- Nascimento, F. A., S. Barbosa-da-Silva, et al. (2010). "Adipose tissue, liver and pancreas structural alterations in C57BL/6 mice fed high-fat-high-sucrose diet supplemented with fish oil (n-3 fatty acid rich oil)." Exp Toxicol Pathol **62**(1): 17-25.
- Navarro-Tableros, V., T. Fiordelisio, et al. (2007). "Physiological development of insulin secretion, calcium channels, and GLUT2 expression of pancreatic rat beta-cells." Am J Physiol Endocrinol Metab **292**(4): E1018-1029.
- Neel, J. V. (1962). "Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"?" Am J Hum Genet **14**: 353-362.
- Newbern, D. and M. Freemark (2011). "Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth." Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes **18**(6): 409-416.
- Newcomer, S. C., P. Taheripour, et al. (2012). "Impact of porcine maternal aerobic exercise training during pregnancy on endothelial cell function of offspring at birth." J Dev Orig Health Dis **3**(1): 4-9.
- Newsholme, P., V. Cruzat, et al. (2014). "Nutrient regulation of insulin secretion and action." J Endocrinol **221**(3): R105-120.
- Nommsen, L. A., C. A. Lovelady, et al. (1991). "Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study." Am J Clin Nutr **53**(2): 457-465.
- Nwagwu, M. O., A. Cook, et al. (2000). "Evidence of progressive deterioration of renal function in rats exposed to a maternal low-protein diet in utero." Br J Nutr **83**(1): 79-85.
- O'Connor, P. J., M. S. Poudevigne, et al. (2011). "Safety and efficacy of supervised strength training adopted in pregnancy." J Phys Act Health **8**(3): 309-320.
- O'Connor, T. G., J. Heron, et al. (2003). "Maternal antenatal anxiety and behavioural/emotional problems in children: a test of a programming hypothesis." J Child Psychol Psychiatry **44**(7): 1025-1036.

- Ogata, E. S., M. E. Bussey, et al. (1986). "Altered gas exchange, limited glucose and branched chain amino acids, and hypoinsulinism retard fetal growth in the rat." Metabolism **35**(10): 970-977.
- Oken, E., Y. Ning, et al. (2006). "Associations of physical activity and inactivity before and during pregnancy with glucose tolerance." Obstet Gynecol **108**(5): 1200-1207.
- Oliver, M. H., J. E. Harding, et al. (1993). "Glucose but not a mixed amino acid infusion regulates plasma insulin-like growth factor-I concentrations in fetal sheep." Pediatr Res **34**(1): 62-65.
- Osmond, C., D. J. Barker, et al. (1993). "Early growth and death from cardiovascular disease in women." BMJ **307**(6918): 1519-1524.
- Papathakis, P. C., L. N. Singh, et al. (2016). "How maternal malnutrition affects linear growth and development in the offspring." Mol Cell Endocrinol.
- Parnpiansil, P., N. Jutapakdeegul, et al. (2003). "Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup." Neurosci Lett **352**(1): 45-48.
- Parsons, T. J., C. Power, et al. (2001). "Fetal and early life growth and body mass index from birth to early adulthood in 1958 British cohort: longitudinal study." BMJ **323**(7325): 1331-1335.
- Perales, M., A. Santos-Lozano, et al. (2016). "Benefits of aerobic or resistance training during pregnancy on maternal health and perinatal outcomes: A systematic review." Early Hum Dev **94**: 43-48.
- Perez-Laso, C., S. Segovia, et al. (2008). "Environmental prenatal stress alters sexual dimorphism of maternal behavior in rats." Behav Brain Res **187**(2): 284-288.
- Petersen, K. F., D. Laurent, et al. (1998). "Mechanism by which glucose and insulin inhibit net hepatic glycogenolysis in humans." J Clin Invest **101**(6): 1203-1209.
- Petrik, J., B. Reusens, et al. (1999). "A low protein diet alters the balance of islet cell replication and apoptosis in the fetal and neonatal rat and is associated with a reduced pancreatic expression of insulin-like growth factor-II." Endocrinology **140**(10): 4861-4873.
- Pham, T. D., N. K. MacLennan, et al. (2003). "Uteroplacental insufficiency increases apoptosis and alters p53 gene methylation in the full-term IUGR rat kidney." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **285**(5): R962-970.
- Phillips, A. F., P. J. Porte, et al. (1984). "Effects of chronic fetal hyperglycemia upon oxygen consumption in the ovine uterus and conceptus." J Clin Invest **74**(1): 279-286.
- Phillips, D. I., D. J. Barker, et al. (1994). "Thinness at birth and insulin resistance in adult life." Diabetologia **37**(2): 150-154.
- Phillips, D. I., S. Hirst, et al. (1994). "Fetal growth and insulin secretion in adult life." Diabetologia **37**(6): 592-596.
- Pike, K. C., H. M. Inskip, et al. (2013). "The relationship between maternal adiposity and infant weight gain, and childhood wheeze and atopy." Thorax **68**(4): 372-379.
- Platt, K. M., R. J. Charnigo, et al. (2013). "Controlled exercise is a safe pregnancy intervention in mice." J Am Assoc Lab Anim Sci **52**(5): 524-530.

- Ponsot, E., J. Zoll, et al. (2005). "Mitochondrial tissue specificity of substrates utilization in rat cardiac and skeletal muscles." *J Cell Physiol* **203**(3): 479-486.
- Portha, B., A. Fournier, et al. (2014). "Early environmental factors, alteration of epigenetic marks and metabolic disease susceptibility." *Biochimie* **97**: 1-15.
- Poston, L., R. Bell, et al. (2015). "Effect of a behavioural intervention in obese pregnant women (the UPBEAT study): a multicentre, randomised controlled trial." *Lancet Diabetes Endocrinol* **3**(10): 767-777.
- Pruett, W., Y. Yuan, et al. (1995). "Association between GRB2/Sos and insulin receptor substrate 1 is not sufficient for activation of extracellular signal-regulated kinases by interleukin-4: implications for Ras activation by insulin." *Mol Cell Biol* **15**(3): 1778-1785.
- Raipuria, M., H. Bahari, et al. (2015). "Effects of maternal diet and exercise during pregnancy on glucose metabolism in skeletal muscle and fat of weanling rats." *PLoS One* **10**(4): e0120980.
- Ramgopal, M., B. S. Kruthika, et al. (2014). "Terminalia paniculata bark extract attenuates non-alcoholic fatty liver via down regulation of fatty acid synthase in high fat diet-fed obese rats." *Lipids Health Dis* **13**: 58.
- Ramos, E., A. Castilla, et al. (2008). "Suckling-induced oxytocin increase in the spinal cord of the rat." *Brain Res* **1236**: 85-92.
- Ranade, P. S. and S. S. Rao (2013). "Maternal long-chain PUFA supplementation during protein deficiency improves brain fatty acid accretion in rat pups by altering the milk fatty acid composition of the dam." *J Nutr Sci* **2**: e5.
- Rasschaert, J., B. Reusens, et al. (1995). "Impaired activity of rat pancreatic islet mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase in protein malnutrition." *Endocrinology* **136**(6): 2631-2634.
- Ravelli, A. C., J. H. van der Meulen, et al. (1998). "Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine." *Lancet* **351**(9097): 173-177.
- Ray, J. G., P. R. Wyatt, et al. (2005). "Greater maternal weight and the ongoing risk of neural tube defects after folic acid flour fortification." *Obstet Gynecol* **105**(2): 261-265.
- Reusens, B., N. Theys, et al. (2011). "Maternal malnutrition programs the endocrine pancreas in progeny." *Am J Clin Nutr* **94**(6 Suppl): 1824S-1829S.
- Reynolds, R. M., K. M. Allan, et al. (2013). "Maternal obesity during pregnancy and premature mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years." *BMJ* **347**: f4539.
- Ricart-Jane, D., V. Rodriguez-Sureda, et al. (2002). "Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat." *Metabolism* **51**(7): 925-931.
- Rich-Edwards, J. W., M. J. Stampfer, et al. (1997). "Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976." *BMJ* **315**(7105): 396-400.
- Robinson, A. M. and D. J. Bucci (2014). "Physical exercise during pregnancy improves object recognition memory in adult offspring." *Neuroscience* **256**: 53-60.

- Ruan, C., X. Liu, et al. (1995). "Milk composition in women from five different regions of China: the great diversity of milk fatty acids." J Nutr **125**(12): 2993-2998.
- Ruchat, S. M., M. H. Davenport, et al. (2012). "Walking program of low or vigorous intensity during pregnancy confers an aerobic benefit." Int J Sports Med **33**(8): 661-666.
- Ruchat, S. M., M. H. Davenport, et al. (2012). "Effect of exercise intensity and duration on capillary glucose responses in pregnant women at low and high risk for gestational diabetes." Diabetes Metab Res Rev **28**(8): 669-678.
- Ruzzin, J., Y. C. Lai, et al. (2005). "Consumption of carbohydrate solutions enhances energy intake without increased body weight and impaired insulin action in rat skeletal muscles." Diabetes Metab **31**(2): 178-188.
- Sakamoto, K. and G. D. Holman (2008). "Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic." Am J Physiol Endocrinol Metab **295**(1): E29-37.
- Salvesen, K. A., E. Hem, et al. (2012). "Fetal wellbeing may be compromised during strenuous exercise among pregnant elite athletes." Br J Sports Med **46**(4): 279-283.
- Sasaki, J., A. Yamaguchi, et al. (1995). "Exercise at high temperature causes maternal hyperthermia and fetal anomalies in rats." Teratology **51**(4): 233-236.
- Sauter, N. S., F. T. Schulthess, et al. (2008). "The antiinflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist protects from high-fat diet-induced hyperglycemia." Endocrinology **149**(5): 2208-2218.
- Schiavone, S., V. Jaquet, et al. (2013). "Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology." Antioxid Redox Signal **18**(12): 1475-1490.
- Schmidt, L., T. Sobotka, et al. (2012). "Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood." Hum Reprod Update **18**(1): 29-43.
- Sheen, J. M., C. S. Hsieh, et al. (2016). "Programming Effects of Prenatal Glucocorticoid Exposure with a Postnatal High-Fat Diet in Diabetes Mellitus." Int J Mol Sci **17**(4): 533.
- Sheldon, R. D., A. Nicole Blaize, et al. (2016). "Gestational exercise protects adult male offspring from high-fat diet-induced hepatic steatosis." J Hepatol **64**(1): 171-178.
- Shukla, G. C., J. Singh, et al. (2011). "MicroRNAs: Processing, Maturation, Target Recognition and Regulatory Functions." Mol Cell Pharmacol **3**(3): 83-92.
- Siri-Tarino, P. W., Q. Sun, et al. (2010). "Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease." Am J Clin Nutr **91**(3): 502-509.
- Skinner, M. K. (2008). "What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2." Reprod Toxicol **25**(1): 2-6.
- Skovbro, M., R. Boushel, et al. (2011). "High-fat feeding inhibits exercise-induced increase in mitochondrial respiratory flux in skeletal muscle." J Appl Physiol (1985) **110**(6): 1607-1614.
- Slupecka, M., K. Romanowicz, et al. (2016). "Maternal High-Fat Diet during Pregnancy and Lactation Influences Obestatin and Ghrelin Concentrations in Milk and Plasma of Wistar Rat Dams and Their Offspring." Int J Endocrinol **2016**: 5739763.

- Smith, Z. D. and A. Meissner (2013). "DNA methylation: roles in mammalian development." Nat Rev Genet **14**(3): 204-220.
- Snoeck, A., C. Remacle, et al. (1990). "Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas." Biol Neonate **57**(2): 107-118.
- Songstad, N. T., K. H. Kaspersen, et al. (2015). "Effects of High Intensity Interval Training on Pregnant Rats, and the Placenta, Heart and Liver of Their Fetuses." PLoS One **10**(11): e0143095.
- Sosa-Larios, T. C., M. A. Cerbon, et al. (2015). "Epigenetic alterations caused by nutritional stress during fetal programming of the endocrine pancreas." Arch Med Res **46**(2): 93-100.
- Soultanakis, H. N., R. Artal, et al. (1996). "Prolonged exercise in pregnancy: glucose homeostasis, ventilatory and cardiovascular responses." Semin Perinatol **20**(4): 315-327.
- Stanford, K. I., M. Y. Lee, et al. (2015). "Exercise before and during pregnancy prevents the deleterious effects of maternal high-fat feeding on metabolic health of male offspring." Diabetes **64**(2): 427-433.
- Stegers-Theunissen, R. P. and E. A. Steegers (2003). "Nutrient-gene interactions in early pregnancy: a vascular hypothesis." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **106**(2): 115-117.
- Stein, C. E., C. H. Fall, et al. (1996). "Fetal growth and coronary heart disease in south India." Lancet **348**(9037): 1269-1273.
- Sternfeld, B., C. P. Quesenberry, Jr., et al. (1995). "Exercise during pregnancy and pregnancy outcome." Med Sci Sports Exerc **27**(5): 634-640.
- Storlien, L. H., D. A. Pan, et al. (1996). "Skeletal muscle membrane lipids and insulin resistance." Lipids **31** **Suppl**: S261-265.
- Strable, M. S. and J. M. Ntambi (2010). "Genetic control of de novo lipogenesis: role in diet-induced obesity." Crit Rev Biochem Mol Biol **45**(3): 199-214.
- Stryer, L. (1995). "Biochemistry." **4th Edition**.
- Su, L. L., K. T. S, et al. (2010). "The influence of maternal ethnic group and diet on breast milk fatty acid composition." Ann Acad Med Singapore **39**(9): 675-675.
- Suarez, L., M. Felkner, et al. (2004). "The effect of fever, febrile illnesses, and heat exposures on the risk of neural tube defects in a Texas-Mexico border population." Birth Defects Res A Clin Mol Teratol **70**(10): 815-819.
- Surkan, P. J., C. C. Hsieh, et al. (2004). "Reasons for increasing trends in large for gestational age births." Obstet Gynecol **104**(4): 720-726.
- Svitok, P., L. Molcan, et al. (2016). "Prenatal hypoxia in rats increased blood pressure and sympathetic drive of the adult offspring." Hypertens Res **39**(7): 501-505.
- Szymanski, L. M. and A. J. Satin (2012). "Exercise during pregnancy: fetal responses to current public health guidelines." Obstet Gynecol **119**(3): 603-610.
- Szymanski, L. M. and A. J. Satin (2012). "Strenuous exercise during pregnancy: is there a limit?" Am J Obstet Gynecol **207**(3): 179 e171-176.

- Tang, N., T. Matsuzaka, et al. (2014). "Ablation of Elov16 protects pancreatic islets from high-fat diet-induced impairment of insulin secretion." Biochem Biophys Res Commun **450**(1): 318-323.
- Taylor, D. J., C. H. Thompson, et al. (1995). "A relationship between impaired fetal growth and reduced muscle glycolysis revealed by 31P magnetic resonance spectroscopy." Diabetologia **38**(10): 1205-1212.
- Taylor, P. D., J. McConnell, et al. (2005). "Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **288**(1): R134-139.
- Thompson, D., H. Berger, et al. (2013). "Diabetes and pregnancy." Can J Diabetes **37 Suppl 1**: S168-183.
- Tirosh, A., R. Potashnik, et al. (1999). "Oxidative stress disrupts insulin-induced cellular redistribution of insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in 3T3-L1 adipocytes. A putative cellular mechanism for impaired protein kinase B activation and GLUT4 translocation." J Biol Chem **274**(15): 10595-10602.
- Torres-Rovira, L., P. Gonzalez-Anover, et al. (2013). "Effect of an obesogenic diet during the juvenile period on growth pattern, fatness and metabolic, cardiovascular and reproductive features of Swine with obesity/leptin resistance." Endocr Metab Immune Disord Drug Targets **13**(2): 143-151.
- Torres-Villalobos, G., N. Hamdan-Perez, et al. (2015). "Combined high-fat diet and sustained high sucrose consumption promotes NAFLD in a murine model." Ann Hepatol **14**(4): 540-546.
- Treadway, J. L. and S. A. Lederman (1986). "The effects of exercise on milk yield, milk composition, and offspring growth in rats." Am J Clin Nutr **44**(4): 481-488.
- Triplitt, C., C. Solis-Herrera, et al. (2000). Classification of Diabetes Mellitus. Endotext. L. J. De Groot, P. Beck-Peccoz, G. Chrousos et al. South Dartmouth (MA).
- Tzivion, G., M. Dobson, et al. (2011). "FoxO transcription factors; Regulation by AKT and 14-3-3 proteins." Biochim Biophys Acta **1813**(11): 1938-1945.
- Vagero, D. and D. Leon (1994). "Ischaemic heart disease and low birth weight: a test of the fetal-origins hypothesis from the Swedish Twin Registry." Lancet **343**(8892): 260-263.
- Valdez, R., M. A. Athens, et al. (1994). "Birthweight and adult health outcomes in a biethnic population in the USA." Diabetologia **37**(6): 624-631.
- van Assche, F. A. and L. Aerts (1979). "The fetal endocrine pancreas." Contrib Gynecol Obstet **5**: 44-57.
- van Katwijk, C. and L. L. Peeters (1998). "Clinical aspects of pregnancy after the age of 35 years: a review of the literature." Hum Reprod Update **4**(2): 185-194.
- Vanheest, J. L. and C. D. Rodgers (1997). "Effects of exercise in diabetic rats before and during gestation on maternal and neonatal outcomes." Am J Physiol **273**(4 Pt 1): E727-733.

- Vega, C. C., L. A. Reyes-Castro, et al. (2015). "Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism." Int J Obes (Lond) **39**(4): 712-719.
- Vehaskari, V. M., D. H. Aviles, et al. (2001). "Prenatal programming of adult hypertension in the rat." Kidney Int **59**(1): 238-245.
- Vial, G., M. A. Chauvin, et al. (2015). "Imeglimin normalizes glucose tolerance and insulin sensitivity and improves mitochondrial function in liver of a high-fat, high-sucrose diet mice model." Diabetes **64**(6): 2254-2264.
- Vial, G., H. Dubouchaud, et al. (2011). "Effects of a high-fat diet on energy metabolism and ROS production in rat liver." J Hepatol **54**(2): 348-356.
- Wadhwa, P. D. (2005). "Psychoneuroendocrine processes in human pregnancy influence fetal development and health." Psychoneuroendocrinology **30**(8): 724-743.
- Wallace, D. C. (2010). "Bioenergetics and the epigenome: interface between the environment and genes in common diseases." Dev Disabil Res Rev **16**(2): 114-119.
- Wasinski, F., R. F. Bacurau, et al. (2015). "Exercise during pregnancy protects adult mouse offspring from diet-induced obesity." Nutr Metab (Lond) **12**: 56.
- Weissgerber, T. L. and L. A. Wolfe (2006). "Physiological adaptation in early human pregnancy: adaptation to balance maternal-fetal demands." Appl Physiol Nutr Metab **31**(1): 1-11.
- Whincup, P. H., D. G. Cook, et al. (1997). "Childhood size is more strongly related than size at birth to glucose and insulin levels in 10-11-year-old children." Diabetologia **40**(3): 319-326.
- Whitaker, R. C. (2004). "Predicting preschooler obesity at birth: the role of maternal obesity in early pregnancy." Pediatrics **114**(1): e29-36.
- Wiebe, H. W., N. G. Boule, et al. (2015). "The effect of supervised prenatal exercise on fetal growth: a meta-analysis." Obstet Gynecol **125**(5): 1185-1194.
- Wilcox, G. (2005). "Insulin and insulin resistance." Clin Biochem Rev **26**(2): 19-39.
- Wills, J., J. M. Watson, et al. (1996). "The relation of fetal growth to insulin secretion in young men." Diabet Med **13**(8): 773-774.
- Wilusz, J. E., H. Sunwoo, et al. (2009). "Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world." Genes Dev **23**(13): 1494-1504.
- Winick, M. and A. Noble (1966). "Cellular response in rats during malnutrition at various ages." J Nutr **89**(3): 300-306.
- Wisloff, U., J. Helgerud, et al. (2001). "Intensity-controlled treadmill running in rats: VO(2 max) and cardiac hypertrophy." Am J Physiol Heart Circ Physiol **280**(3): H1301-1310.
- Wojtaszewski, J. F., B. F. Hansen, et al. (2000). "Insulin signaling and insulin sensitivity after exercise in human skeletal muscle." Diabetes **49**(3): 325-331.
- Wolfe, L. A., I. K. Brenner, et al. (1994). "Maternal exercise, fetal well-being and pregnancy outcome." Exerc Sport Sci Rev **22**: 145-194.

- Wolfe, L. A., A. P. Heenan, et al. (2003). "Aerobic conditioning effects on substrate responses during graded cycling in pregnancy." Can J Physiol Pharmacol **81**(7): 696-703.
- Wolmarans, P. (2009). "Background paper on global trends in food production, intake and composition." Ann Nutr Metab **55**(1-3): 244-272.
- Woods, L. L., J. R. Ingelfinger, et al. (2001). "Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats." Pediatr Res **49**(4): 460-467.
- Wu, G., B. Imhoff-Kunsch, et al. (2012). "Biological mechanisms for nutritional regulation of maternal health and fetal development." Paediatr Perinat Epidemiol **26 Suppl 1**: 4-26.
- Wu, H., M. Jin, et al. (2015). "Protective effects of aerobic swimming training on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease: regulation of lipid metabolism via PANDER-AKT pathway." Biochem Biophys Res Commun **458**(4): 862-868.
- Xu, P. T., Z. Song, et al. (2015). "Impaired translocation of GLUT4 results in insulin resistance of atrophic soleus muscle." Biomed Res Int **2015**: 291987.
- Yajnik, C. S., C. H. Fall, et al. (1995). "Fetal growth and glucose and insulin metabolism in four-year-old Indian children." Diabet Med **12**(4): 330-336.
- Yoshihara, H., J. Wakamatsu, et al. (2006). "Beef extract supplementation increases leg muscle mass and modifies skeletal muscle fiber types in rats." J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) **52**(3): 183-193.
- Zguira, M. S., S. Vincent, et al. (2013). "Intense exercise training is not effective to restore the endothelial NO-dependent relaxation in STZ-diabetic rat aorta." Cardiovasc Diabetol **12**: 32.
- Zhang, P., D. Zhu, et al. (2016). "Prenatal hypoxia promotes atherosclerosis via vascular inflammation in the offspring rats." Atherosclerosis **245**: 28-34.
- Zoll, J., N. Koulmann, et al. (2003). "Quantitative and qualitative adaptation of skeletal muscle mitochondria to increased physical activity." J Cell Physiol **194**(2): 186-193.

ANNEXES

Composition Nutritive/kg

ACIDES AMINÉS		TOTAL *
Arginine	mg	14 000
Cystine	mg	3 200
Lysine	mg	11 500
Méthionine	mg	4 400
Tryptophane	mg	2 600
Glycine	mg	12 000

ACIDES GRAS		TOTAL *
Acide palmitique	mg	7 600
Acide palmitoléique	mg	500
Acide stéarique	mg	1 500
Acide oléique	mg	10 000
Acide linoléique	mg	25 000
Acide linoléique	mg	2 800

MINÉRAUX		TOTAL *
P	mg	5 900
Ca	mg	8 200
Na	mg	2 800
K	mg	8 600
Mg	mg	2 000
Mn	mg	90
Fe	mg	280
Cu	mg	18
Zn	mg	64
Cl	mg	4 100

VITAMINES		TOTAL *
Vitamine A	UI	14 000
Vitamine D3	UI	1 200
Vitamine B1	mg	8
Vitamine B2	mg	13
Vitamine B5	mg	27
Vitamine B6	mg	3,5
Vitamine B12	mg	0,04
Vitamine E	mg	50
Vitamine K3	mg	5,7
Niacine	mg	90
Ac.Folic	mg	0,9
Biotine	mg	0,07
Choline	mg	2 100

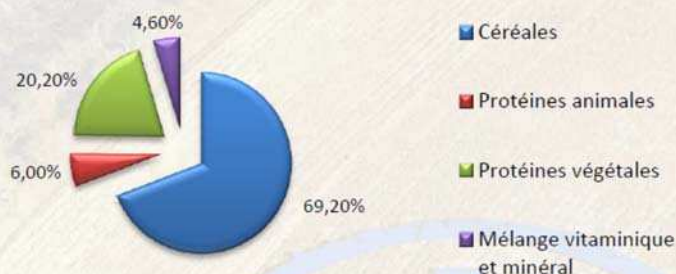
Technologie des Pellets

Moyenne*		
Diamètre	mm	10,45
Résistance à l'écrasement	kgf/cm ²	14,6
Résistance à l'abrasion	%	98,6
Masse spécifique	g/l	709
Poids	g	1,819
Longueur	mm	18,21

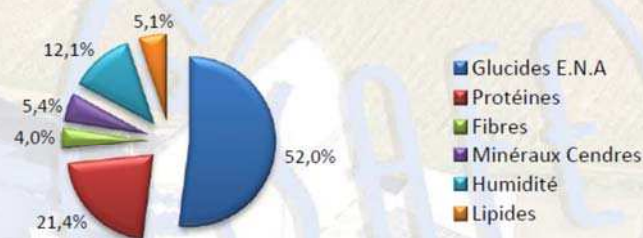
Composition

Blé, maïs, son de blé, orge, graines de soja extrudées, tourteau d'extraction de soja, protéine de poissons hydrolysée, levure de bière, carbonate de calcium, prémélange de vitamines, prémélange de minéraux, phosphate bicalcique.

Composition Centésimale en %



Composition Nutritive en %



Valeur Énergétique**	Kcal/kg	Mj/kg	% Protéines	% Lipides	% Carbohydrates
Atwater	3 395	14,21	25,2	13,5	61,3
ME	3 236	13,55	-	-	-

** Information du calcul de l'Énergie:

<http://www.safe-diets.com/fre/produits/informations/energy/aliments-et-energie.html>

Glucides E.N.A. dont

- Amidon	(en %)	33,5
- Sucres totaux	(en %)	4,4

* Les valeurs sont données à titre d'information, il s'agit de moyennes calculées sur valeurs brutes du produit. Elles sont indicatives et n'ont pas de valeur contractuelle. Elles sont soumises à des variations liées aux conditions de production, stockage et de méthodes analytiques. Une analyse peut être réalisée sur demande.

Glucides E.N.A. : Extrait non azoté, valeur calculée.

Composition Nutritive /kg

ACIDES AMINÉS		TOTAL *
Arginine	mg	9 000
Cystine	mg	2 500
Lysine	mg	7 200
Méthionine	mg	2 800
Tryptophane	mg	1 900
Glycine	mg	8 100

ACIDES GRAS		TOTAL *
Acide palmitique	mg	5 900
Acide palmitoléique	mg	150
Acide stéarique	mg	600
Acide oléique	mg	4 800
Acide linoléique	mg	15 000
Acide linoléique	mg	1 200

MINÉRAUX		TOTAL *
P	mg	5 500
Ca	mg	7 300
Na	mg	2 500
K	mg	6 000
Mg	mg	1 600
Mn	mg	70
Fe	mg	270
Cu	mg	16
Zn	mg	55
Cl	mg	4 000

VITAMINES		TOTAL *
Vitamine A	UI	7 500
Vitamine D3	UI	1 000
Vitamine B1	mg	7
Vitamine B2	mg	6,5
Vitamine B5	mg	16,5
Vitamine B6	mg	2,6
Vitamine B12	mg	0,02
Vitamine E	mg	30
Vitamine K3	mg	2,5
Niacine	mg	75
Ac.Folic	mg	0,5
Biotine	mg	0,04
Choline	mg	1 600

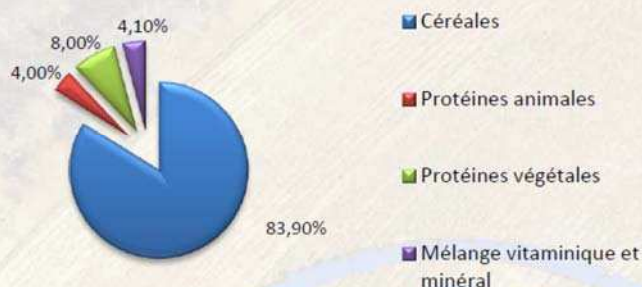
Technologie des Pellets

		Moyenne*
Diamètre	mm	16,43
Résistance à l'écrasement	kgf/cm ²	22,7
Résistance à l'abrasion	%	97,3
Masse spécifique	g/l	645
Poids	g	5,319
Longueur	mm	22,64

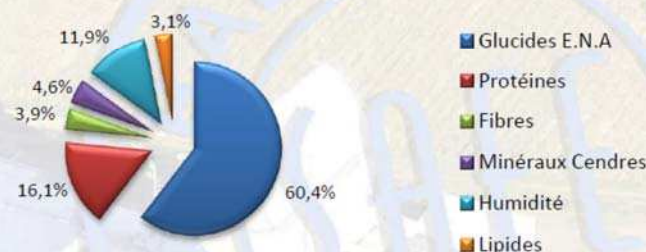
Composition

Orge, blé, maïs, tourteau d'extraction de soja, son de blé, protéine de poissons hydrolysée, phosphate bicalcique, prémélange de minéraux, carbonate de calcium, prémélange de vitamines.

Composition Centésimale en %



Composition Nutritive en %



Valeur Energétique**	Kcal/kg	Mj/kg	% Protéines	% Lipides	% Carbohydrates
Atwater	3 339	13,97	19,3	8,4	72,4
ME	3 145	13,17	-	-	-

** Information du calcul de l'Energie:

<http://www.safe-diets.com/fr/produits/informations/energy/aliments-et-energie.html>

Glucides E.N.A. dont

- Amidon	(en %)	43,5
- Sucres totaux	(en %)	3,2

* Les valeurs sont données à titre d'information, il s'agit de moyennes calculées sur valeurs brutes du produit. Elles sont indicatives et n'ont pas de valeur contractuelle. Elles sont soumises à des variations liées aux conditions de production, stockage et de méthodes analytiques. Une analyse peut être réalisée sur demande.

Glucides E.N.A. : Extrait non azoté, valeur calculée.

TD.99249 36% Fat Diet

Formula	g/Kg
Casein	228.0
DL-Methionine	2.0
Maltodextrin	170.0
Sucrose	166.33
Soybean Oil	25.0
Anhydrous Milkfat	333.5
Mineral Mix, AIN-93G-MX (94046)	45.5
Sodium Bicarbonate	10.5
Potassium Citrate, monohydrate	4.0
Vitamin Mix, AIN-93-VX (94047)	13.0
Choline Bitartrate	2.0
TBHQ, antioxidant	0.02
Red Food Color	0.15

Key Features

- Purified Diet
- Diet Induced Obesity
- Anhydrous Milkfat
- Color Coded

Key Planning Information

- Products are made fresh to order
- Store product at 4°C or lower
- Recommended use within 3 months
- Box labeled with product name, manufacturing date, and lot number
- Lead time:
 - 2 weeks non-irradiated
 - 4 weeks irradiated

Product Specific Information

- 1/2" Pellet or Powder (crumbly)
- Minimum order 3 Kg
- Irradiation not advised
 - Contact a nutritionist for recommendations

Options (Fees Will Apply)

- Rush order (pending availability)
- Irradiation (see Product Specific Information)
- Vacuum packaging (0.5, 1, 2, 2.5 Kg)

Footnote

A diet used to induce obesity. Approximate fatty acid profile (% of total fat): 61% saturated, 31% monounsaturated, 8% polyunsaturated. Pellets are soft due to the high fat content.

Selected Nutrient Information¹

	% by weight	% kcal from
Protein	20.0	14.7
Carbohydrate	35.1	25.7
Fat	36.1	59.6
Kcal/g	5.5	

¹ Values are calculated from ingredient analysis or manufacturer data

Speak With A Nutritionist

- 800-483-5523
- askanutritionist@teklad.com

International Inquiry

- Outside U.S.A. or Canada
- askanutritionist@teklad.com

Place Your Order (U.S.A. & Canada)


- Place Order - Obtain Pricing -
- Check Order Status -
- 800-483-5523
- 608-277-2066 *facsimile*
- customerservice@teklad.com

Proportions et concentrations en acides gras dans le colostrum et le lait maternel

Type de lait	colostrum J2	colostrum J2	colostrum J2	lait J20	lait J20	lait J20	Type de lait	colostrum J2	colostrum J2	colostrum J2	lait J20	lait J20	lait J20
Groupe	CT	TR	SH	CT	TR	SH	Groupe	CT	TR	SH	CT	TR	SH
Lipides totaux mg/ml	99.15	140.50	165.90	127.62	145.78	152.37							
AG % relatif (% des acides gras totaux)							AG en mg/ml lait						
C6	0.21	0.20	0.19	0.21	0.18	0.19	C6	0.20	0.28	0.30	0.26	0.27	0.29
C8	3.17	3.68	3.55	5.28	5.52	5.36	C8	3.19	4.96	5.78	6.59	8.07	8.02
C10	8.94	9.84	9.13	14.18	13.96	13.79	C10	8.80	13.03	14.59	17.86	20.35	20.84
C12:0	7.42	7.49	6.52	11.17	9.79	10.04	C12:0	7.15	9.87	10.14	14.24	14.26	15.37
C14:0	6.19	6.03	5.20	9.64	8.03	8.53	C14:0	6.09	8.05	7.95	12.27	11.69	13.28
C14:1T	0.06	0.02	0.06	0.01	0.01	0.01	C14:1T	0.05	0.03	0.09	0.01	0.02	0.01
C14:1	0.02	0.02	0.05	0.02	0.04	0.03	C14:1	0.02	0.04	0.07	0.03	0.06	0.05
C15:0	0.23	0.19	0.23	0.24	0.22	0.24	C15:0	0.23	0.27	0.37	0.31	0.33	0.36
C15:1T	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	C15:1T	0.03	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07
C15:1	0.04	0.04	0.04	0.02	0.02	0.03	C15:1	0.03	0.06	0.07	0.02	0.04	0.05
C16:0	17.23	17.14	18.38	17.84	17.01	17.09	C16:0	18.24	24.48	30.57	22.90	24.74	26.45
C16:1n-9	0.29	0.29	0.32	0.23	0.30	0.28	C16:1n-9	0.29	0.42	0.53	0.31	0.45	0.42
C16:1n-7	1.25	1.58	1.91	0.86	1.49	1.17	C16:1n-7	1.45	2.40	3.25	1.10	2.17	1.74
C17:0	0.27	0.23	0.24	0.31	0.26	0.28	C17:0	0.25	0.33	0.38	0.40	0.39	0.42
C17:1	0.15	0.15	0.15	0.22	0.28	0.21	C17:1	0.15	0.22	0.25	0.29	0.42	0.31
C18:0	3.23	3.05	3.29	3.31	2.96	3.21	C18:0	3.26	4.40	5.41	4.24	4.29	4.89
C18:1n-9	16.68	16.15	16.08	12.28	14.16	13.16	C18:1n-9	16.19	23.50	27.41	15.87	20.66	19.78
C18:1n-7	1.27	1.43	1.46	0.79	1.01	0.96	C18:1n-7	1.36	1.99	2.46	0.98	1.48	1.44
C18: 2 n-6	16.63	17.87	19.13	15.60	17.60	17.32	C18: 2 n-6	17.73	25.05	32.50	19.78	25.63	26.38
C18: 3 n-6	0.91	0.98	1.20	0.22	0.23	0.23	C18: 3 n-6	0.97	1.41	2.06	0.30	0.33	0.36
C18: 3 n-3	1.01	1.06	1.15	1.38	1.55	1.49	C18: 3 n-3	1.06	1.47	1.94	1.76	2.27	2.26
C18:4n-3	0.18	0.15	0.12	0.13	0.12	0.14	C18:4n-3	0.14	0.22	0.20	0.17	0.18	0.21
C20:1 n-9	0.86	0.98	0.78	0.57	0.57	0.57	C20:1 n-9	0.80	1.42	1.31	0.71	0.84	0.86
C20:2 n-6	0.56	0.51	0.48	0.28	0.31	0.33	C20:2 n-6	0.54	0.71	0.81	0.36	0.45	0.50
C20: 3 n-6	0.74	0.70	0.66	0.16	0.17	0.18	C20: 3 n-6	0.71	0.99	1.14	0.21	0.25	0.28
C20: 4 n-6	2.64	2.76	2.95	0.65	0.73	0.86	C20: 4 n-6	2.62	3.93	5.08	0.80	1.05	1.30
C20: 4 n-3	0.23	0.15	0.13	0.17	0.10	0.16	C20: 4 n-3	0.19	0.22	0.21	0.22	0.15	0.24
C20: 5 n-3	0.45	0.47	0.47	0.18	0.16	0.18	C20: 5 n-3	0.45	0.67	0.82	0.23	0.24	0.28
C22: 4 n-6	0.49	0.60	0.57	0.11	0.17	0.15	C22: 4 n-6	0.52	0.83	0.98	0.14	0.25	0.22
C22: 5 n-6	0.19	0.15	0.19	0.05	0.07	0.06	C22: 5 n-6	0.17	0.21	0.33	0.07	0.10	0.09
C24:0	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.02	C24:0	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
C24:1 n-9	0.02	0.03	0.01	0.00	0.01	0.00	C24:1 n-9	0.02	0.04	0.03	0.00	0.01	0.00
C22: 5 n-3	0.41	0.48	0.50	0.18	0.21	0.19	C22: 5 n-3	0.44	0.69	0.88	0.23	0.30	0.30
C22:6n-3	0.64	0.77	0.93	0.28	0.29	0.35	C22:6n-3	0.68	1.11	1.57	0.34	0.43	0.53
Somme AGS	47.62	48.58	47.40	62.57	58.16	59.11							
Somme AGCM	20.01	21.52	19.66	30.94	29.50	29.44							
Somme AGMI	21.24	20.99	21.27	15.38	18.22	16.85							
Somme AGPI	25.15	26.74	28.64	19.53	21.80	21.79							
Somme AGPI w6	22.23	23.65	25.33	17.22	19.37	19.28							
Somme AGPI w3	2.74	2.93	3.19	2.18	2.32	2.37							
%w6	88.22	88.46	88.47	88.16	88.81	88.48							
%w3	10.97	10.95	11.11	11.17	10.64	10.88							
w6/w3	8.07	8.10	7.99	7.91	8.36	8.13							
LA/ALA	16.59	17.21	16.93	11.34	11.37	11.61							
ARA/DHA	4.58	3.62	3.32	2.35	2.52	2.49							
EFA status (n-3+n-6/n-7+n-9)	1.33	1.35	1.40	1.34	1.25	1.36							

CALL FOR PAPERS | *Islet Biology*

Short-term and long-term effects of submaximal maternal exercise on offspring glucose homeostasis and pancreatic function

Charline Quiclet,^{1,2,3} Farida Siti,^{1,2,4} Hervé Dubouchaud,^{1,2,3}  Guillaume Vial,^{5,6} Phanélie Berthon,⁸ Eric Fontaine,^{1,2,7} Cécile Batandier,^{1,2,*} and Karine Couturier^{1,2,3,*}

¹Laboratory of Fundamental and Applied Bioenergetics, University Grenoble Alpes, Grenoble, France; ²Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1055, Grenoble, France; ³Unité de Formation et de Recherche en Activités Physiques et Sportives, Structure Fédérative de Recherche Sport Exercice Motricité, University Grenoble Alpes, Grenoble, France; ⁴Faculty of Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia; ⁵INSERM, U1060, Faculté de Médecine Lyon-Sud, Oullins, France; ⁶Center for European Nutrition and Health, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France; ⁷Grenoble University Hospital, Grenoble, France; and ⁸Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité, University Savoie Mont Blanc, Le Bourget du Lac, France

Submitted 31 March 2016; accepted in final form 1 July 2016

Quiclet C, Siti F, Dubouchaud H, Vial G, Berthon P, Fontaine E, Batandier C, Couturier K. Short-term and long-term effects of submaximal maternal exercise on offspring glucose homeostasis and pancreatic function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 311: E508–E518, 2016. First published July 5, 2016; doi:10.1152/ajpendo.00126.2016.—Only a few studies have explored the effects of maternal exercise during gestation on adult offspring metabolism. We set out to test whether maternal controlled submaximal exercise maintained throughout all gestational periods induces persistent metabolic changes in the offspring. We used a model of 15-wk-old nulliparous female Wistar rats that exercised (trained group) before and during gestation at a submaximal intensity or remained sedentary (control group). At weaning, male offspring from trained dams showed reduced basal glycemia (119.7 ± 2.4 vs. 130.5 ± 4.1 mg/dl, $P < 0.05$), pancreas relative weight (3.96 ± 0.18 vs. 4.54 ± 0.14 g/kg body wt, $P < 0.05$), and islet mean area ($22,822 \pm 4,036$ vs. $44,669 \pm 6,761$ μm^2 , $P < 0.05$) compared with pups from control dams. Additionally, they had better insulin secretory capacity when stimulated by 2.8 mM glucose + 20 mM arginine compared with offspring from control dams (+96%, $P < 0.05$). At 7 mo of age, offspring from trained mothers displayed altered glucose tolerance ($\text{AUC} = 15,285 \pm 527$ vs. $11,898 \pm 988$ $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}\cdot 120$ min, $P < 0.05$) and decreased muscle insulin sensitivity estimated by the phosphorylated PKB/total PKB ratio (-32% , $P < 0.05$) and tended to have a reduced islet insulin secretory capacity compared with rats from control dams. These results suggest that submaximal maternal exercise modifies short-term male offspring pancreatic function and appears to have rather negative long-term consequences on sedentary adult offspring glucose handling.

gestation; exercise; offspring; glucose homeostasis; pancreas

BASED ON EPIDEMIOLOGICAL DATA, Barker and Osmond (4), Hanson and Gluckman (36), and McMillen and Robinson (49) described the concept of the “Developmental Origins of Health and Diseases,” suggesting that the in utero environment and the

first stages of life environment may play a role in the occurrence of diseases in adulthood. Many epidemiological and experimental studies relate early nutritional environment to metabolic disorders such as diabetes, insulin resistance, and obesity as well as hypertension or cardiovascular diseases (3–5, 33, 45, 46, 48, 55, 56, 66, 73, 75, 82). Among them, type 2 diabetes mellitus (T2DM) is growing in modern societies at an alarming rate (79a). Environmental (i.e., food intake, obesity, and physical activity level, among others) and genetic factors are thought to play a role in the susceptibility to this disease (68).

Some studies have also established a link between increased glucose intolerance or T2DM prevalence in adulthood and a maternal nutrient intake during gestation (44, 49, 59, 60, 69, 73) or offspring low (3, 10, 35, 48, 81) or high (3, 8, 48, 81) birth weight. This suggests that an inadequate maternal nutritional environment during fetal life may influence fetal development.

To enhance the chances for a successful parturition and to improve both their health and that of their developing child, women are prone to adopt a healthy lifestyle when pregnant (29, 32). Many of them may be willing to eat a healthier diet and stay physically active during that period (32).

Regular moderate exercise has been shown to decrease susceptibility to T2DM in pregnant women (26, 27, 50, 63), by enhancing insulin sensitivity and fostering non-insulin-stimulated glucose uptake (61, 78). The effects of gestational exercise on the mother are now well known, including improved aerobic capacity and cardiovascular fitness or reduced gestational diabetes incidence (2, 24, 27, 53, 62, 63). However, potential outcomes on offspring are still to be studied. Recent studies show that voluntary exercise during pregnancy and nursing can improve glucose tolerance and insulin sensitivity in adult offspring (13, 14). It has been proven that a controlled mild pace of exercise during pregnancy is safe in mice and humans (18, 57, 67, 70, 79). However, the effects of a controlled submaximal yet intense exercise during gestation on offspring health are contradictory (41, 70, 71). The literature reports various effects of maternal exercise on offspring birth weight and body composition (20–23, 37, 38). However, most

* C. Batandier and K. Couturier co-supervised the entire study.

Address for reprint requests and other correspondence: C. Quiclet, Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée, INSERM U1055, Université Grenoble Alpes, CS 40700, 38058 Grenoble Cedex 9, France (e-mail: charline.quiclet@gmail.com).

of them show decreased body and fat mass in offspring from exercised dams (20, 21, 37). Currently, one hypothesis to explain the differences observed in birth weight would be changes in placental growth and in glucose and oxygen delivery toward the fetus during maternal exercise (17). Even if the reduction in placental blood flow is blunted by gestational exercise training with increased oxygen and substrate delivery during resting conditions, placental oxygen and nutrient delivery remained lower during moderate- to high-intensity exercise sessions (16). However, the consequences of these changes in uterine blood flow during exercise on fetus well being are conflicting (64, 70).

Taken together, these data suggest that the antenatal period, with many factors, including the mother's physical activity level, that can influence the intrauterine development and offspring birth weight, could be of major importance in the development of chronic diseases later in life (11, 25, 31, 40, 65, 72).

Considering the known effects of voluntary maternal exercise on glucose tolerance and insulin sensitivity in adult rodent offspring (13, 14), we have developed a model of pregnant rats subjected to compulsory exercise to study, with a functional approach and physiological tools, the impact of this constraint on glucose handling in pups. We postulate that metabolic improvements (13, 14) can result from structural and metabolic changes of the pancreas in the offspring from exercised dams. The literature shows that the effects of exercise during pregnancy on offspring depend on the intensity and the duration of this exercise (19, 47, 79). We wanted to test whether the metabolic adaptations such as improved glucose tolerance and greater insulin sensitivity were also present if the exercise was compulsory, submaximal but yet intense (55% of maximal aerobic speed), and maintained until almost the end of pregnancy rather than voluntary.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Animals. Nulliparous 15-wk-old female Wistar rats (Charles River Laboratories, Saint Germain-Nuelles, France) were housed three per cage with access to food (A03; SAFE Diets, Augy, France) and water ad libitum. The animal facility was on a 12-h light-dark cycle and maintained at a temperature of $22 \pm 2^\circ\text{C}$. All experimental procedures were carried out in accordance with European Directive 2010/63/UE. They were reviewed by the Institutional Ethics Committee for Animal Care and Use and authorized by the French Ministry of Research (00174.01 accepted in March 2014). After a 1-wk acclimatization period, female rats were assigned to either a sedentary (control; $n = 9$) or trained ($n = 12$) group. Body weight and food consumption were monitored once/wk during breeding and pregnancy. Trained females were exercised using a motorized treadmill (Bioseb, Vitrolles, France) 5 days/wk during the 4 wk before gestation and during the first 18 days of gestation, whereas female rats from the control group were kept in their cages. The treadmill speed and the duration of the training session were gradually increased during the first 3 wk of training to reach a speed of 25 m/min for 60 min. After 4 wk of controlled exercise, females from each group were housed with male rats during 1 wk for mating. The male rats did not exercise during the study. Vaginal smears were performed each day until spermatozoa were found to determine the first day of

gestation. On postnatal day 2, litter sizes were equalized to eight pups. Pups were cross-fostered from other litters from the same group and the same age to maximize the number of males per litter. Mothers from the trained group did not exercise during nursing. Pups were weighted on postnatal days 7, 14, and 21. Only male pups were used in the study. Some pups were tested at weaning (3–4 wk of age), and others were housed two per cage until 7 mo of age without any controlled physical activity and fed with food (A04 rodent diet; SAFE Diets) and water ad libitum. Mothers were euthanized after nursing and offspring at weaning and at 7 mo of age. Selected fat depots, skeletal muscles, and organs were dissected and weighed to estimate the changes in body composition and/or collected and stored at -80°C for other measurements.

Intraperitoneal glucose tolerance test. Intraperitoneal glucose tolerance tests (IPGTT) were performed on pups at 3 wk and 7 mo of age after a 16-h overnight fast. Only a few pups ($n = 8$ –14) from each group were tested at 3 wk of age. Glucose was intraperitoneally injected at 1 g/kg body wt. Blood glucose readings were taken via tail pick before ($t = 0$ min) and 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 60, 90, and 120 min after glucose injection using an Accu-Chek glucometer (Roche Diabetes Care, Meylan, France). Areas under the curve (AUC) were related to $t = 0$ min.

Intraperitoneal insulin tolerance test. Intraperitoneal insulin tolerance tests (IPITT) were performed on pups from each group used for IPGTT at 4 wk and 7 mo of age after a 6-h fast. Insulin was intraperitoneally injected at 1 mIU/g body wt. Blood glucose readings were taken via tail pick before ($t = 0$ min) and 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, and 120 min after insulin injection, as described above. Blood samples were collected before insulin injection to determine fasting plasma insulin by radioimmunoassay (RIA) kit (Merck Millipore). Areas over the curve (AOC) were related to $t = 0$ min.

Insulin load test and analysis of insulin signaling in skeletal muscle and liver. After a 6-h fast, 3-wk- (other than those used for tolerance tests) and 7-mo-old rats were intraperitoneally injected with NaCl (0.9%; control C– and trained T–) or with insulin (10 mIU/g body wt; control C+ and trained T+). Rats were euthanized 15 min after injection, and gastrocnemius muscle and liver were rapidly removed and frozen until their use to determine protein kinase B (PKB) phosphorylation level by Western blotting as an indicator of insulin sensitivity (76). Tissues were homogenized in PBS buffer containing 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS supplemented with 5 mM EDTA, 1 mM Na_3VO_4 , 20 mM NaF, 1 mM DTT, and protease inhibitor cocktail (P2714; Sigma). Proteins were subjected to SDS-10% PAGE. Separated proteins were transferred onto polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane and incubated overnight with primary antibodies (total Akt/PKB, no. 9272, and phospho-Akt/PKB Ser⁴⁷³, no. 9271; Cell Signaling Technology). Primary antibodies were detected with a horse-radish peroxidase-conjugated secondary antibody (no. 172-10-19; Bio-Rad) and revealed with enhanced chemiluminescence system (Pierce).

Pancreas insulin content. Pancreases were dissected just after euthanasia and stored at -80°C . They were then homogenized at 4°C in 6 ml of acidified ethanol (0.18 M HCl in 70% ethanol) and placed overnight on a rotative wheel (20 rpm, 4°C). The day after, homogenates were sonicated twice for 10 s each time and then placed on a rotative wheel for 2 days (20

rpm, 4°C). Homogenates were then centrifuged (150 g, 5 min, 4°C). Supernatants were collected and centrifuged (3,200 g, 20 min, 4°C). The resulting supernatants were collected and stored at -80°C until insulin content assay by RIA kit (Merck Millipore).

Pancreas histology. In a subset of animals from each group, pancreases were dissected just after euthanasia, fixed in Tissue-Tek, and stored at -80°C. Cross-sections were done using a cryostat on glass slides. Sections were randomly selected and colored using hematoxylin-eosin staining. Islets were outlined and their areas expressed in square micrometers using ImageJ software.

Islet isolation and glucose-stimulated insulin secretion test. Pancreatic islet isolation was performed on the rats used for IPGTT and IPITT by collagenase digestion. Rats were anesthetized by an intraperitoneal injection of pentobarbital sodium (5 mg/100 g body wt). The abdomen was opened and the pancreas exposed as much as possible. The pancreatic duct was clamped with a hemostat at its duodenal insertion with care to avoid pancreatic tissue injuries. The bile duct at the proximal end was isolated and cut with fine scissors at one-third of the way across. A 26G catheter was inserted and fixed in the bile duct. A collagenase digestion solution (10 ml of collagenase from *Clostridium histolyticum* type XI at 1 mg/ml; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) in Hanks' balanced salt solution (HBSS) was infused slowly. The pancreas was then carefully removed and placed in 7.5 ml of HBSS at 4°C and incubated in a water bath preset at 37°C for 11 min. After incubation, the tubes were vigorously hand-shaken for 15 s before the addition of 25 ml of a "wash solution" (HBSS; 5% fetal bovine serum). The tubes were centrifuged (250 g, 2 min, 4°C) and the supernatants discarded. The pellets were filtered through a wire mesh. Twenty-five milliliters of wash solution was then added, the tube was centrifuged (250 g, 2 min, 4°C), and the supernatant was poured off. The washing procedure was repeated two more times. After the last centrifugation, 5 ml of the supernatant was kept with the pellet. A density gradient was then prepared by pouring 10 ml of Histopaque 1.119 (Sigma-Aldrich) in a 50-ml tube that was overlaid with 10 ml of Histopaque 1.077. Islets were then resuspended with 7.5 ml of Histopaque 1.119 + 3.5 ml of Histopaque 1.077, and the suspension was layered on the Histopaque 1.077 phase, followed by 10 ml of HBSS on top. The gradient was centrifuged (1,750 g, 20 min, 20°C) with slow acceleration and no braking. The islets were then collected from each of the interfaces. The islets were washed three times in 25 ml of wash solution (1 time at 350 g, 5 min, 4°C, and 2 times at 250 g, 2 min, 4°C). Islets were then cultured in RPMI, 10% FBS, 1% sodium pyruvate, and 1% antibiotic/antimycotic solution overnight at 37°C. The day after isolation, the islets were incubated with either glucose or glucose plus arginine to determine their insulin secretory capacity. After a 1-h preincubation in 2.8 mM low-glucose medium at 37°C, islets were then incubated for 1 h in 2.8 mM low-glucose medium at 37°C, and supernatants were collected. Islet insulin secretion was then stimulated by incubation with either 16.7 mM high glucose medium for 3-wk-old and 7-mo-old rats or 2.8 mM low glucose + 20 mM arginine medium for 3-wk-old rats only (1) for 1 h at 37°C, and supernatants were collected. Residual total insulin was extracted in 0.18 M HCl and 70% ethanol. Samples were stored

at -80°C until insulin assay by ELISA (3 wk of age; Alpcos) or RIA (7 mo of age; Merck Millipore) kits.

Statistical analysis. Data are expressed as means \pm SE. Data were analyzed using one-way or two-way ANOVA with Holm-Sidak post hoc test. Kruskal-Wallis tests were applied when values were not normally distributed (Sigma Plot). $P < 0.05$ was considered significant, and $P < 0.2$ was considered as tendency.

RESULTS

Exercise training before and during gestation reduces fat depots in the mothers without any alteration in food intake or other organs. Body weight of female Wistar rats was similar in the two groups at the beginning of the study and after the first 4 wk of training (Table 1). After nursing, body weight of trained mothers tended to be lower than that of control mothers (286 \pm 4 vs. 297 \pm 7 g for trained and control groups, respectively, $P = 0.136$; Table 1). Food intake was similar between both groups from the beginning of the protocol to the end of lactating period (Table 1). Exercise training did not affect the weight of organs such as liver, kidney, pancreas, or muscles (Table 1). However, relative mass of the sum of retroperitoneal, urogenital, and mesenteric fats depots was significantly lower in trained mothers compared with control mothers (39.5 \pm 2.7 vs. 54.3 \pm 6.0 g/kg body wt for trained and control groups, respectively, $P < 0.05$; Table 1).

Exercise training before and during gestation in mothers has no effect on the litter outcomes. The number of pups per litter as well as the sex ratio were similar in the trained and control groups (Table 2). Offspring body weights were not affected by mother exercise intervention at any time (Table 2).

Maternal exercise affects offspring pancreas weight and islets size at 3 wk of age. At weaning, body weight and organ relative weight were not different in offspring from control or trained mothers, except for the pancreas (Table 3). Indeed, pancreas relative weight was found to be lower in pups from trained mothers compared with that of pups from control mothers (3.96 \pm 0.18 vs. 4.53 \pm 0.14 g/kg body wt for trained and control groups, respectively, $P < 0.05$; Table 3). Moreover, mean islet area measured in 3-wk-old pups from trained dams is significantly smaller compared with that measured in pups from control dams (Table 3). At 7 mo of age, no

Table 1. Maternal BW, FI, and organ relative weight after nursing

	Control	Trained
BW before the study, g	260 \pm 5	260 \pm 4
BW before gestation, g	277 \pm 22	276 \pm 19
BW after nursing, g	297 \pm 7	286 \pm 4
FI before gestation, g/day	18.4 \pm 0.5	18.4 \pm 0.4
FI after gestation, g/day	23.0 \pm 1.3	20.7 \pm 0.7
FI after nursing, g/day	70.3 \pm 1.5	73.0 \pm 1.4
Pancreas, g/kg BW	4.34 \pm 0.32	4.26 \pm 0.18
Liver, g/kg BW	26.01 \pm 0.98	30.34 \pm 1.94
Kidney, g/kg BW	2.89 \pm 0.13	3.17 \pm 0.08
Fat, g/kg BW	54.30 \pm 5.97	39.45 \pm 2.65*
Muscles, g/kg BW	5.90 \pm 0.24	6.02 \pm 0.11

Data are means \pm SE ($n = 9$ for control and $n = 12$ for trained). BW, body weight; FI, food intake. Fat mass was calculated as the sum of retroperitoneal, urogenital, and mesenteric fat depots. Muscle mass was calculated as the sum of gastrocnemius, plantaris, and soleus muscles. * $P < 0.05$ vs. control.

Table 2. Litter outcomes

	Control	Trained
Litter size	12.1 ± 2.0	10.8 ± 3.8
No. of males	5.2 ± 1.8	5.2 ± 2.5
No. of females	6.9 ± 2.0	5.7 ± 2.6
Day 7 BW, g	16.1 ± 1.0	16.9 ± 0.6
Day 14 BW, g	32.5 ± 1.3	32.9 ± 0.9
Day 21 BW, g	50.9 ± 1.7	50.1 ± 1.0

Data are means ± SE ($n = 9$ for control and $n = 12$ for trained).

differences were found in body and organ relative weights, including pancreas (Table 3). However, we noticed that there is a tendency to a higher relative fat pad mass ($P = 0.153$) in rats from trained mothers compared with those from control mothers (Table 3).

Effect of maternal exercise on offspring blood glucose and insulin levels. After a 16-h fast, 21-day-old pups showed a similar glycemia in both groups (104.6 ± 4.6 vs. 108.0 ± 2.7 mg/dl for trained and control groups, respectively; Fig. 1A).

After a 6-h fast, 28-day-old pups from trained mothers showed a lower glycemia compared with pups from control mothers (119.7 ± 2.4 vs. 130.5 ± 4.1 mg/dl, respectively, $P < 0.05$; Fig. 1B), whereas insulinemia was similar in both groups even if it tended to be higher in rats from trained mothers (0.31 ± 0.04 vs. 0.21 ± 0.05 ng/ml for trained and control groups, respectively, $P = 0.158$; Fig. 1C).

In 7-mo-old rats, neither blood glucose nor insulin levels were different, whatever the duration of the fasting (Fig. 1, D–F).

Effect of maternal exercise on offspring glucose tolerance. At 21 days of age, there was no difference in blood glucose levels between the two groups at any point of the IPGTT (Fig. 2A), and area under the curve (AUC) as a measure of the overall glucose disposal was not significantly different between both groups (Fig. 2B).

However, in 7-mo-old rats, blood glucose levels were higher in animals from the trained group compared with those from the control group during the first 15 min of the IPGTT (Fig. 2E). Moreover, the AUC is significantly larger in the trained group compared with the control group ($15,258 \pm 924$ vs. $11,614 \pm 1,366$ mg·dl⁻¹·120 min for the trained and control groups, respectively, $P < 0.05$; Fig. 2F).

Effect of maternal exercise on offspring insulin sensitivity. At 28 days of age, offspring from trained dams displayed lower blood glucose levels during the IPITT compared with the pups

from control group (Fig. 2C) due to a significantly lower starting glycemia (as already shown in Fig. 1B). However, the overall insulin sensitivity estimated by the area over the curve (AOC) appeared to be similar in both groups ($5,318 \pm 513$ vs. $3,507 \pm 1,178$ mg·dl⁻¹·120 min for the trained and control groups, respectively; Fig. 2D).

At 7 mo of age, blood glucose levels were not different at any point of the IPITT between animals from the trained group compared with those from the control group (Fig. 2G). This is confirmed by the AOC, which was similar between both groups (Fig. 2H).

Effect of maternal exercise on offspring insulin signaling in liver and skeletal muscle. Insulin signaling was studied by measuring the level of expression of PKB and its phosphorylated form (pPKB) in both liver and gastrocnemius muscle after either a NaCl or an insulin load. Figure 3 shows the pPKB/PKB ratios obtained.

At 21 days of age, pups from the trained group showed an increase in the pPKB/PKB ratio compared with pups from the control group in basal the condition (T– and C–, respectively) in both liver (+77%, $P < 0.05$; Fig. 3A) and muscle (+97%, $P < 0.05$; Fig. 3C). However, these differences were not seen after an insulin load injection (T+ and C+) in either liver (Fig. 3A) or gastrocnemius muscle (Fig. 3C).

At 7 mo of age, pPKB/PKB ratio was similar in the liver of animals from the two groups whatever the condition (NaCl load or insulin load; Fig. 3E). In muscle, under insulin load, pPKB/PKB ratio was significantly lower in rats from the trained group (T+) when compared with rats from the control group (C+) (–32%, $P < 0.05$) (Fig. 3G), whereas it remained similar between groups in basal condition (T– vs. C–; Fig. 3G).

Effect of maternal exercise on offspring pancreas insulin content and islet insulin secretion. The total insulin content in pancreas was not different between trained and control groups whether at 3 wk of age (Fig. 4A) or at 7 mo of age (Fig. 4C).

At 28 days of age, the islet insulin secretion was not significantly different in pups from trained dams compared with those from control dams either after low glucose (2.8 mM) or high glucose (16.7 mM) incubation (Fig. 4B). However, islet insulin secretion after low glucose (2.8 mM) + arginine (20 mM) incubation was significantly higher in pups from trained dams compared with those from control dams (+96%, $P = 0.01$; Fig. 4B).

Table 3. Offspring body outcomes

	Weaning		7 Mo of Age	
	Control	Trained	Control	Trained
Body weight, g	51.61 ± 3.43	47.49 ± 1.16	506.9 ± 24.5	528.8 ± 16.6
Organ weights, g/kg BW				
Liver	31.81 ± 0.75	30.97 ± 0.19	27.88 ± 0.76	28.36 ± 0.84
Kidney	6.02 ± 0.11	5.99 ± 0.11	2.26 ± 0.03	2.38 ± 0.05
Fat	8.68 ± 0.57	9.00 ± 0.35	45.97 ± 4.38	54.71 ± 3.04
Muscles	4.58 ± 0.13	4.54 ± 0.07	5.97 ± 0.21	5.53 ± 0.24
Pancreas	4.54 ± 0.14	3.96 ± 0.18*	2.94 ± 0.17	3.03 ± 0.11
Islet area, μm ²	44,669 ± 6,761	22,822 ± 4,036*		

Data are means ± SE ($n = 16$ for control and $n = 17$ for trained at weaning; $n = 8$ for control and $n = 6$ for trained at 7 mo of age; $n = 11$ –13 for islet area). Fat mass was calculated as the sum of retroperitoneal, epididymal, and mesenteric fat depots. Muscle mass was the sum of gastrocnemius, plantaris, and soleus muscles. * $P < 0.05$ vs. control.

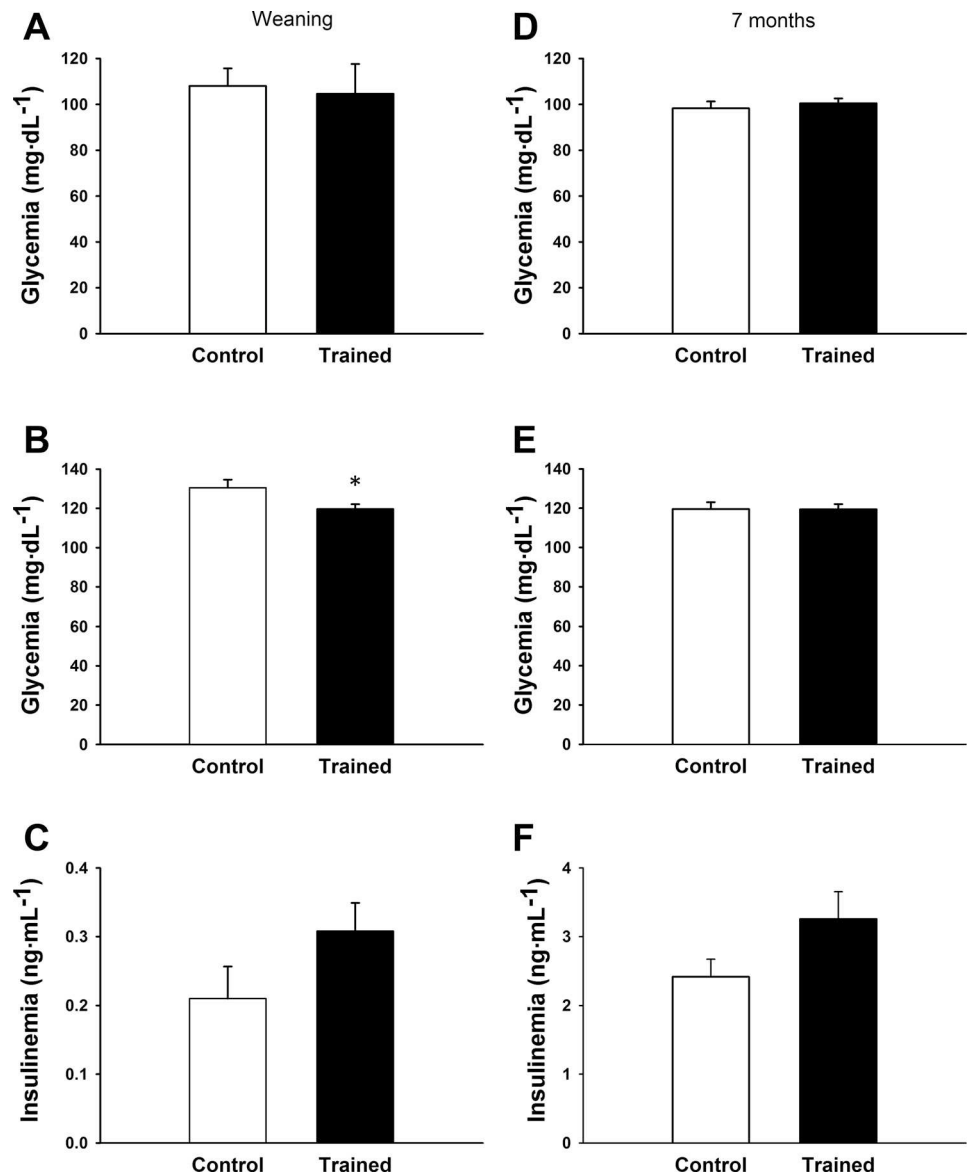


Fig. 1. Maternal exercise reduces 6-h-fasting glycemia and tends to increase 6-h-fasting insulinemia in 28-day-old offspring. Rat offspring fasting glycemia was measured after a 16-h fast (A and D) and a 6-h fast (B and E) at 21 days (A), 28 days (B), and 7 mo of age (D and E). Fasting insulinemia was determined after a 6-h fast (C and F) at 28 days (C) and 7 mo of age (F). Data are means \pm SE; $n = 4$ for control and $n = 6$ for trained groups in C; $n = 8-14$ in A, B, D, E and F. * $P < 0.05$ vs. control.

At 7 mo of age, islet insulin secretion was higher after high glucose (16.7 mM) incubation compared with the low-glucose (2.8 mM) incubation condition ($P < 0.05$) (Fig. 4D). However, the islet insulin secretion tended to be lower in rats from trained group compared with rats from control group whether in the low-glucose (2.8 mM) or high-glucose (16.7 mM) condition ($P = 0.102$ and $P = 0.255$, respectively; Fig. 4D).

DISCUSSION

For the first time, to our knowledge, we show that submaximal maternal exercise alters the offspring pancreatic function. Especially, we observed 1) a decline in insulin secretion with age in animals from the exercised mothers along with 2) a glucose intolerance and 3) a skeletal muscle insulin resistance that are not present in offspring from sedentary dams.

Our purpose was to test the effect of daily chronic exercise during the gestation on fit females that were already active before gestation. We chose to train them for 4 wk before mating, as such a duration is usually sufficient to get the first

signs of adaptation to chronic endurance exercise (77). Studies using voluntary exercise in rodents with running wheels showed that the running distance decreased dramatically in the last week of gestation (13, 28). So we chose a compulsory treadmill exercise that allowed us to test the effects of exercise throughout all the gestational periods, with no change in training parameters and especially no reduction in exercise intensity and duration until day 18 of the gestation. To ensure that these adaptations were significant, we also chose a sufficiently high intensity. We used intensity parameters that are classically found in the literature (6, 43, 84). Based on data collected in our laboratory, the speed and slope of the treadmill that we used would correspond to an intensity of about 55% of the maximal aerobic speed. That intensity matches the guidelines for exercise in pregnant women from a lot of countries around the world (30). However, the frequency and the duration are above most of the guidelines, except those from Denmark and the US that recommend at least 30 min of moderate-intensity exercise most of the days or daily (30).

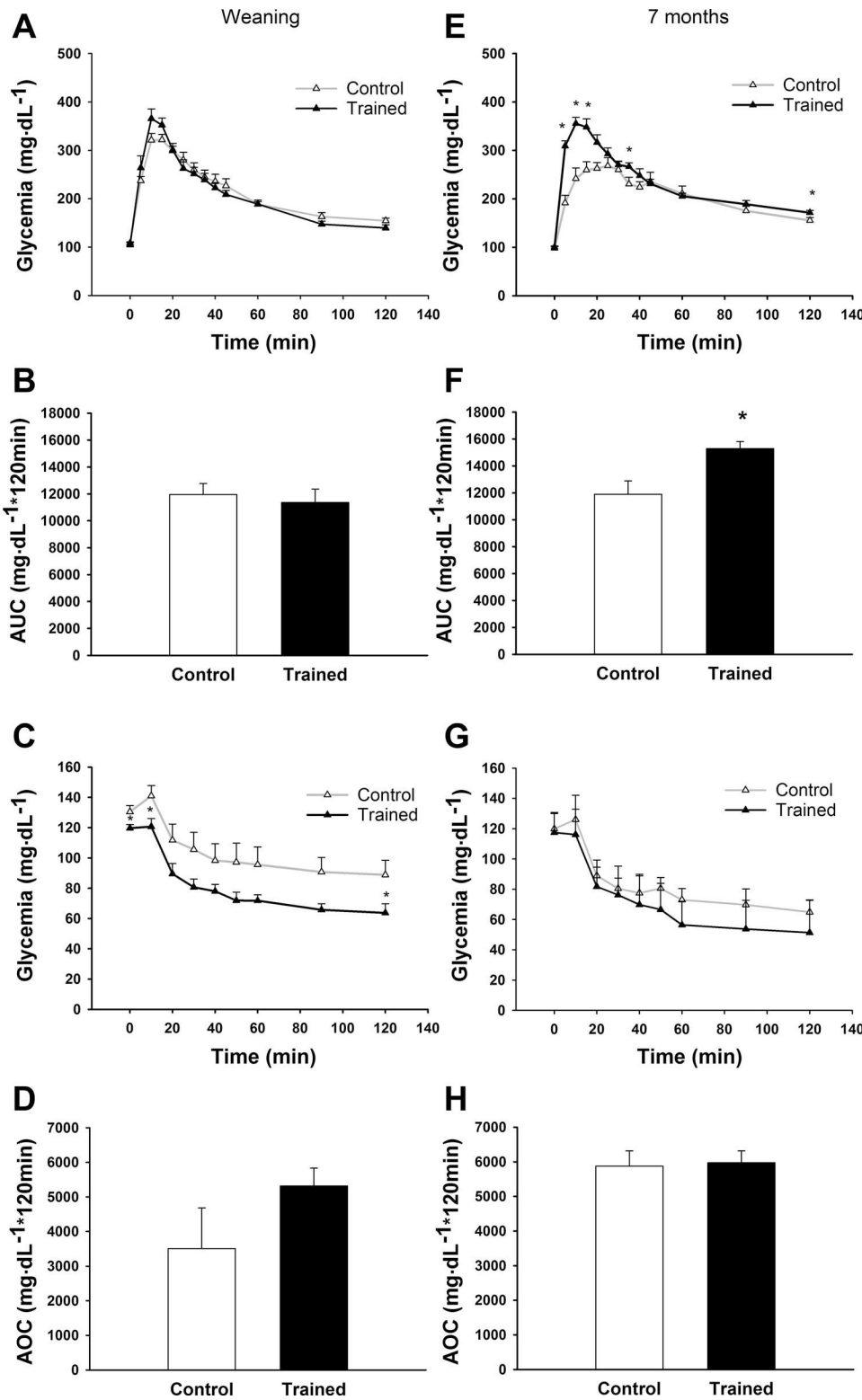
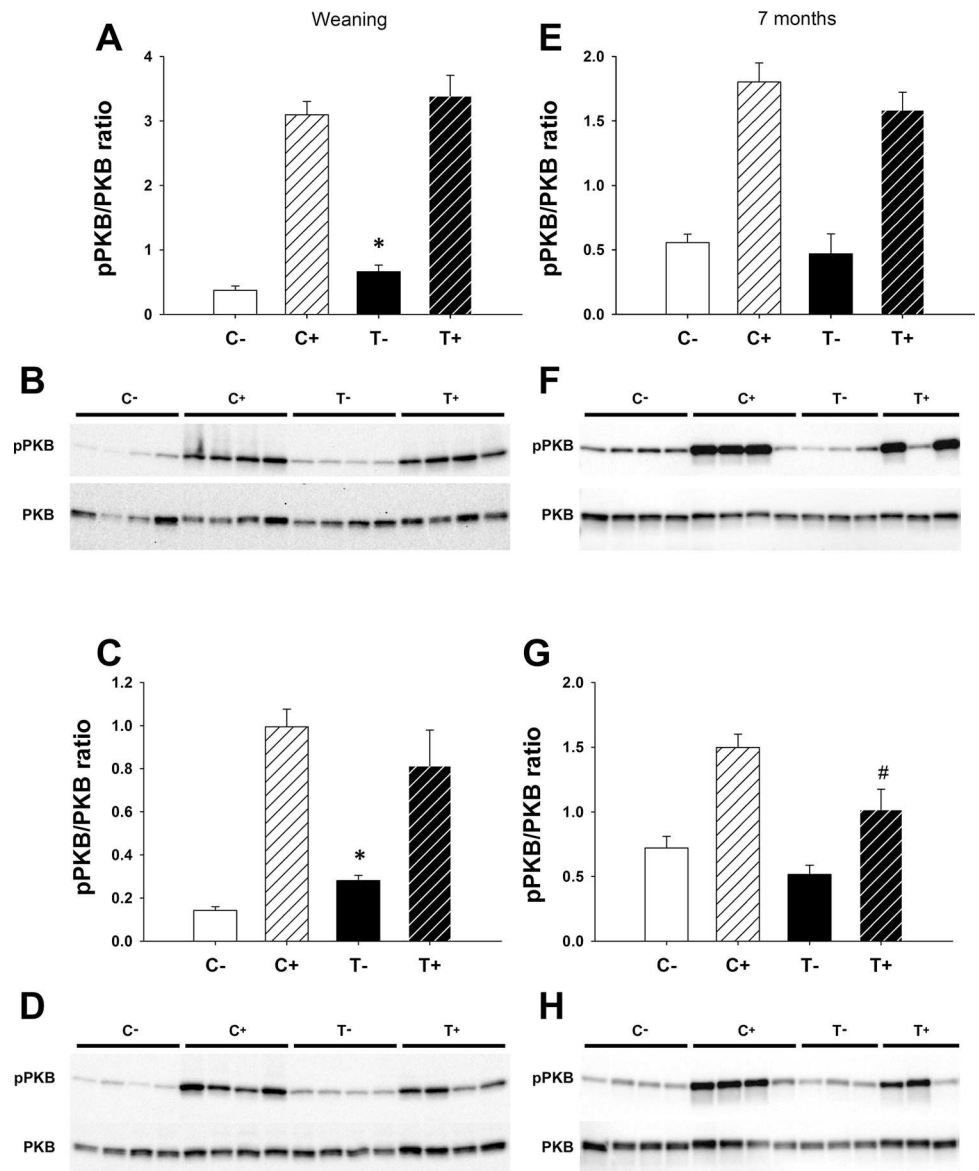


Fig. 2. Maternal exercise alters 7-mo-old offspring glucose tolerance. Rat offspring underwent an intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) at 3 wk (A and B) and at 7 mo of age (E and F) to assess whole body glucose tolerance. Following a 16-h fast, glucose was injected intraperitoneally at 1 g/kg body wt. Blood glucose levels were monitored before injection (0) and 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 60, 90, and 120 min after glucose injection (A and E). Areas under the curve (AUC) of IPGTT (C and G) were related to the value at $t = 0$ min. Rat offspring also underwent an intraperitoneal insulin tolerance test (IPITT) at 4 wk (C and D) and at 7 mo of age (G and H) to assess whole body insulin sensitivity. Following a 6-h fast, insulin was injected intraperitoneally at 1 mIU/g body wt. Blood glucose levels were monitored before injection (0) and 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, and 120 min post-insulin injection (C and G). Areas over the curve (AOC) of IPITT (D and H) were related to the value at $t = 0$ min. Data are means \pm SE; $n = 8-14$. * $P < 0.05$ vs. control.

Moreover, some authors have reported that voluntary and controlled low-intensity exercises during gestation have no negative consequences on dams and litter (14, 57). Our training protocol appears to be safe for the mother and the litter since no differences were found in sex ratio, number, or birth weight of pups. Maternal exercise had no effect on maternal body

weight but seemed to change body composition since the weight of the sum of several selected fat pads was lower in trained mothers. Such reduced relative fat mass after endurance training has been described previously in male and female rats (34, 83). It may be explained by a higher energy expenditure in trained mothers, whereas food consumption is the same as for

Fig. 3. Muscle insulin sensitivity is reduced in 7-mo-old trained group rats. Rat offspring underwent an insulin load test at 3 wk (A and C) and 7 mo of age (E and G) to assess liver and muscle insulin pathway activation as an indicator of insulin sensitivity. Insulin bolus was injected intraperitoneally at 10 mIU/g body wt to half of the rats in each group (C+ and T+), and the others were injected with NaCl (C- and T-). Liver (A and E) and gastrocnemius muscle (C and G) samples were collected 15 min after injection to determine phosphorylated (p)PKB/PKB ratio (Ser⁴⁷³) by Western blotting. Representative Western blots show phosphorylated and total (pPKB and PKB, respectively) PKB content in liver and gastrocnemius muscle of 3-wk- (B and D, respectively) and 7-mo-old (F and H, respectively) offspring from control (C) and trained mothers (T) after NaCl (C- and T-) or insulin (C+ and T+) injection. Quantitation of the signals was expressed in arbitrary units. Data are means \pm SE; $n = 8$ for C-, C+, T-, and T+ (A and C); $n = 4$ for C- and C+, and $n = 3$ for T- and T+ (C and G). * $P < 0.05$ vs. C-; # $P < 0.05$ vs. C+.



controls. In the offspring, the maternal training had no consequence on body weight or body composition as suggested by the muscle mass and the fat mass measured. This surprising result could be explained by the duration of exercise sessions (1 h/day), which is shorter than voluntary exercise using running wheels and the running distance (1.5 km/day in our study vs. 1.5–8 km/day at early gestational age to ~1 km/day at late gestational age on running wheels) (12, 14, 28, 58). Reduced caloric intake in trained mothers appears to have no negative consequences on offspring growth, as judged by a similar body weight in both groups. This could be due to the fact that maternal exercise training is thought to increase resting placental bed blood flow (16) and then nutrient delivery at the maternal-placental interface. During pregnancy, postprandial maternal blood glucose levels would vary in accordance with the type of carbohydrates ingested. In our study, diet was composed mainly of low-glycemic carbohydrates that are associated with no change in blood glucose levels throughout pregnancy and with normal-size offspring contrary to

high-glycemic carbohydrate ingestion (16). However, the training program was associated with a lower relative pancreas weight in weaning rats that was not associated with changes in pancreas total insulin content. Moreover, histological cuts revealed that islet area is reduced in pups from trained mothers. We then looked at the insulin secretory capacity of these islets in various conditions. In low-glucose conditions, basal islet insulin secretion was not affected by maternal exercise at weaning. Under high-glucose condition, the stimulated insulin secretion tended to be higher only in weaning rats from the trained mothers. This may be due to the fact that islet insulin release in response to glucose stimulation is reduced in young rats (7, 9, 42, 51). To alleviate this problem, we then measured the insulin secretion after a glucose plus arginine incubation known to be efficient in fetal and young rats (1). In such a condition, we found that maternal exercise enhanced the islet insulin secretion, which is consistent with the literature. Indeed, a recent study showed that small islets have a higher insulin secretion (39). These changes in islet insulin secretion

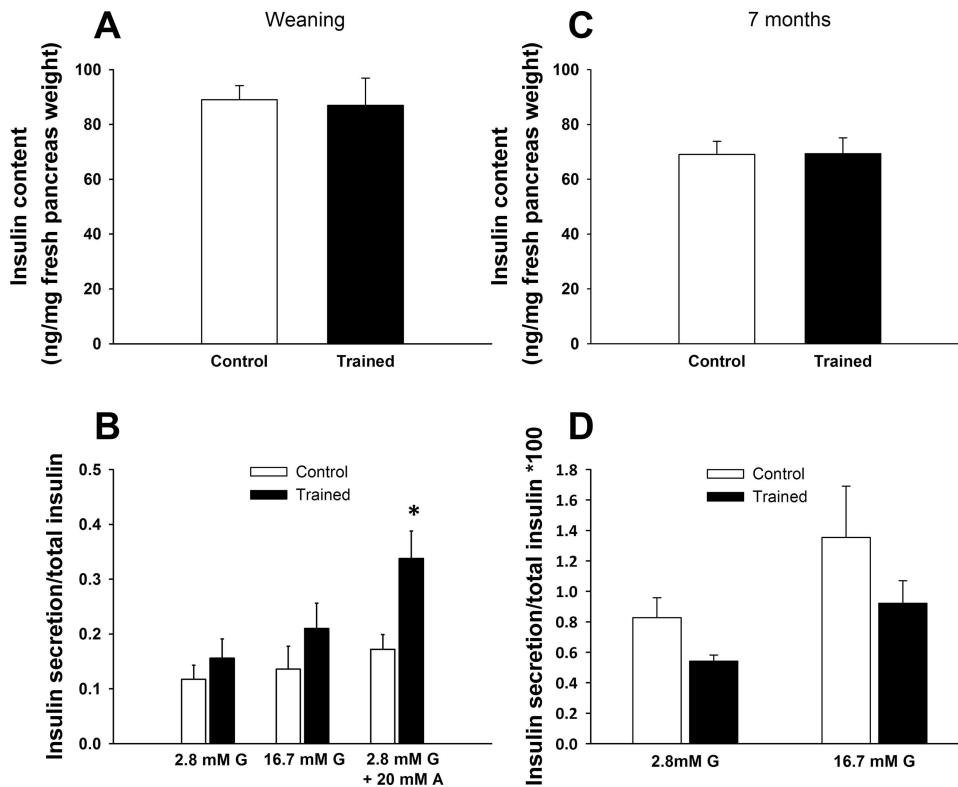


Fig. 4. Maternal exercise does not modify offspring pancreas insulin content but enhances short-term islet insulin secretory capacity and tends to reduce it with aging. Offspring pancreas was collected at 3 wk (A) and at 7 mo of age (C) to determine total insulin content. There were no differences in pancreas insulin content between both groups at 3 wk of age (A) or at 7 mo of age (C). Offspring pancreatic islets were isolated at 4 wk (B) and at 7 mo of age (D) to assess their insulin secretory capacity. The day after isolation, islets were incubated with low glucose (2.8 mM G) and then with high glucose (16.7 mM G) (B and D) or low glucose + arginine (2.8 mM G + 20 mM A) (B). Supernatants were collected and islet insulin secretion determined by ELISA (B) or RIA (D). Data are means \pm SE; $n = 5-9$. * $P < 0.05$ vs. control.

could be responsible for the trend of higher insulinemia found in pups from trained mothers after a 6-h fast.

This tendency of elevated insulinemia without hyperglycemia in pups from trained mothers could be an early marker of insulin resistance. To measure such insulin resistance precisely, we then performed glucose tolerance (IPGTT) and insulin tolerance tests (IPITT) on our animals. Our results show that glucose disposal, as judged by the AUC during IPGTT, and overall insulin sensitivity reflected by the AOC during IPITT were not affected by maternal training. Taken together, these results suggest that, despite a trend of elevated insulinemia, pups from trained mothers were not insulin resistant. This tendency of higher blood insulin could be also a sign for alterations in the insulin signaling. The main insulin-sensitive tissues include skeletal muscle, liver, and adipose tissue (52). Serine/threonine protein kinase Akt/PKB (15) and the ratio between phosphorylated PKB and total PKB content (pPKB/PKB) is classically considered as a good marker of insulin pathway activation (76, 80). Thus, we examined pPKB/PKB ratio in gastrocnemius muscle and in liver both in basal conditions and after an insulin load. In basal conditions, the higher pPKB/PKB ratio measured in both tissues in 3-wk-old rats from trained mothers might be due merely to the trend in a higher plasma insulin level mentioned above. Results after the insulin load confirm that hypothesis since there is no difference in pPKB/PKB ratio between the two groups in that insulin-stimulated condition. So, we can conclude that maternal exercise before and during gestation did not modify liver and muscle insulin pathway activation in offspring.

These effects of maternal exercise on the offspring are age dependent, since results on 7-mo-old rats are different from

those obtained on 3-wk-old rats. Indeed, at 7 mo of age, organ weights were not different between both groups, suggesting that maternal exercise effects would have no significant impact on body composition, including the pancreas. However, relative fat mass tended to be higher ($P = 0.153$) and relative muscle mass lower ($P = 0.183$) in offspring from trained dams. Together, these two results suggest that offspring of trained rats tended to have more fat and may have a significantly higher percentage of body fat. In another set of similar experiments, food consumption was monitored during the first 10 wk after weaning (i.e., 3 mo old), and we did not find any difference between rats from either group (unpublished data). Unfortunately, we do not have any data for the 3- to 7-mo period, but we cannot exclude that food intake becomes different; meanwhile, that could explain the tendency of increased fat mass in rats from the trained group at 7 mo of age. It can also be a consequence of the impossibility to perform their spontaneous activity, resulting in a positive energy balance. Indeed, a study showed that offspring from females that had access to running wheels during gestation were more active in adulthood (28). This would suggest that the lifelong propensity of offspring to exercise depends on maternal physical activity level during gestation (28). In our study, offspring from active mothers could not exert their potential higher spontaneous physical activity while being fed ad libitum. Taken together, these conditions would ultimately lead to an increase in adiposity. Moreover, there were no differences in 6-h or 16-h fasting glycemia, but insulinemia tended to be increased in rats from trained dams after a 6-h fast. However, AUC during IPGTT was significantly larger in 7-mo-old rats born from Trained mothers. This suggests that submaximal maternal exercise would be associated with a worse glucose tolerance in

adult offspring. Here, we show that maternal exercise may have various effects on prospective offspring glucose tolerance, depending on the training session intensity and offspring sex and age. Indeed, our submaximal compulsory exercise program led to a decrease in glucose tolerance in adult offspring, whereas some studies showed that low-intensity voluntary maternal exercise improved it (13, 14). These discrepancies could be explained by several factors. First, these studies were conducted on mice (13) or female Sprague-Dawley rats (14) aged ≤ 16 mo. Moreover, the females had access to running wheels before and throughout gestation and during lactation. In our study, we used 7-mo-old Wistar rats. Moreover, only male offspring were included, and maternal treadmill exercise was compulsory and conducted only before and during gestation, with no change in exercise parameters. In animals from trained mothers, the lower glucose tolerance observed may be due to either exhaustion in islet insulin secretion or a higher insulin resistance (74). Even if pancreas total insulin content was similar between both groups, the tendency to have a lower islet insulin secretion both in basal and in glucose-stimulated conditions may play a role in the glucose intolerance observed in 7-mo-old rats from trained dams. It is unlikely that liver could contribute to that glucose intolerance since the phosphorylation levels of PKB in liver are similar in both groups in basal and insulin-stimulated conditions. In skeletal muscle, the lower pKB/PKB ratio under insulin stimulation in the rats from trained mothers suggests that long-term insulin signaling in muscle could be reduced by maternal exercise done before and during gestation. These results suggest that even if the muscle insulin pathway activation observed with maternal exercise is altered at 7 mo of age, this has no consequences on the overall insulin response at the whole body level, as shown by the lack of difference in AOC during IPITT.

The smaller relative pancreas weight and the smaller islet size could be related to a suboptimal nutritional state of both the mother and the fetus. Indeed, despite the increase of energy expenditure due to training sessions, trained dams had the same food intake as the control dams. This supports the idea that offspring from trained dams may have encountered reduced substrate availability during maternal exercise. It has already been shown that during exercise sessions there could be a transient fetal hypoglycemia (17). These two factors (reduced energy balance and hypoglycemia) could impact the islet insulin secretory capacity under stimulation that could contribute to the trend of increased insulinemia that we observed in pups from trained dams.

Our study shows that submaximal maternal exercise leads to an inappropriate insulin secretion relative to ambient glucose in rodent offspring. Associated with the reduced muscle insulin pathway activation and glucose intolerance that we observed in 7-mo-old offspring, such maternal exercise could increase the susceptibility to T2DM that could be amplified when exposed to bad nutrition such as high-fat diet or to physical inactivity during adulthood. This suggests that daily exercise during the late period of the gestation would be detrimental to offspring, but further studies are needed to determine whether the intensity of such exercise programs may play a role as well.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Cindy Tellier (Laboratory of Fundamental and Applied Bioenergetics, INSERM U1055) for animal care and Anne-Sophie Gauchez (UMR-S INSERM U1039) for insulin assays.

GRANTS

This work was supported by Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale and Structure Fédérative de Recherche Sport Exercice Motricité. C. Quiclet was funded by a 3-year fellowship from the French Ministry of Research.

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

C.Q., F.S., H.D., C.B., and K.C. conception and design of research; C.Q., F.S., G.V., and K.C. performed experiments; C.Q., H.D., C.B., and K.C. analyzed data; C.Q., H.D., P.B., C.B., and K.C. interpreted results of experiments; C.Q. and H.D. prepared figures; C.Q., C.B., and K.C. drafted manuscript; C.Q., H.D., G.V., E.F., C.B., and K.C. edited and revised manuscript; C.Q., F.S., H.D., G.V., P.B., E.F., C.B., and K.C. approved final version of manuscript.

REFERENCES

1. Ammon HP, Glocker C, Waldner RG, Wahl MA. Insulin release from pancreatic islets of fetal rats mediated by leucine b-BCH, tolbutamide, glibenclamide, arginine, potassium chloride, and theophylline does not require stimulation of Ca^{2+} net uptake. *Cell Calcium* 10: 441–450, 1989.
2. Barakat R, Cordero Y, Coteron J, Luaces M, Montejo R. Exercise during pregnancy improves maternal glucose screen at 24–28 weeks: a randomised controlled trial. *Br J Sports Med* 46: 656–661, 2012.
3. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)* 95: 115–128, 1998.
4. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1: 1077–1081, 1986.
5. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ* 298: 564–567, 1989.
6. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol* 47: 1278–1283, 1979.
7. Bliss CR, Sharp GW. Glucose-induced insulin release in islets of young rats: time-dependent potentiation and effects of 2-bromostearate. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 263: E890–E896, 1992.
8. Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics* 115: e290–e296, 2005.
9. Boschero AC, Bordin S, Plasman PO, Herchuelz A. Effect of glucose and K^{+} depolarization on cytosolic free Ca^{2+} in cultured neonatal islets. *Horm Metab Res* 24: 51–52, 1992.
10. Briana DD, Malamitsi-Puchner A. Intrauterine growth restriction and adult disease: the role of adipocytokines. *Eur J Endocrinol* 160: 337–347, 2009.
11. Bringhenti I, Moraes-Teixeira JA, Cunha MR, Ornellas F, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguilá MB. Maternal obesity during the pre-conception and early life periods alters pancreatic development in early and adult life in male mouse offspring. *PLoS One* 8: e55711, 2013.
12. Camarillo IG, Clah L, Zheng W, Zhou X, Larrick B, Blaize N, Breslin E, Patel N, Johnson D, Teegarden D, Donkin SS, Gavin TP, Newcomer S. Maternal exercise during pregnancy reduces risk of mammary tumorigenesis in rat offspring. *Eur J Cancer Prev* 23: 502–505, 2014.
13. Carter LG, Lewis KN, Wilkerson DC, Tobia CM, Ngo Tenlep SY, Shridas P, Garcia-Cazarin ML, Wolff G, Andrade FH, Charnigo RJ, Esser KA, Egan JM, de Cabo R, Pearson KJ. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303: E1061–E1068, 2012.
14. Carter LG, Qi NR, De Cabo R, Pearson KJ. Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. *Med Sci Sports Exerc* 45: 832–840, 2013.
15. Cho H, Mu J, Kim JK, Thorvaldsen JL, Chu Q, Crenshaw EB, 3rd Kaestner KH, Bartolomei MS, Shulman GI, Birnbaum MJ. Insulin

- resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta). *Science* 292: 1728–1731, 2001.
16. **Clapp JF**. Influence of endurance exercise and diet on human placental development and fetal growth. *Placenta* 27: 527–534, 2006.
 17. **Clapp JF 3rd**. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and fetoplacental growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 110, Suppl 1: S80–S85, 2003.
 18. **Clapp JF 3rd**. Exercise and fetal health. *J Dev Physiol* 15: 9–14, 1991.
 19. **Clapp JF 3rd**. Exercise during pregnancy. A clinical update. *Clin Sports Med* 19: 273–286, 2000.
 20. **Clapp JF 3rd**. Morphometric and neurodevelopmental outcome at age five years of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy. *J Pediatr* 129: 856–863, 1996.
 21. **Clapp JF 3rd, Capeless EL**. Neonatal morphometrics after endurance exercise during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 163: 1805–1811, 1990.
 22. **Clapp JF 3rd, Kim H, Burciu B, Lopez B**. Beginning regular exercise in early pregnancy: effect on fetoplacental growth. *Am J Obstet Gynecol* 183: 1484–1488, 2000.
 23. **Clapp JF 3rd, Kim H, Burciu B, Schmidt S, Petry K, Lopez B**. Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. *Am J Obstet Gynecol* 186: 142–147, 2002.
 24. **Clapp JF 3rd, Little KD**. Effect of recreational exercise on pregnancy weight gain and subcutaneous fat deposition. *Med Sci Sports Exerc* 27: 170–177, 1995.
 25. **Cobrin M, Koski KG**. Maternal dietary carbohydrate restriction and mild-to-moderate exercise during pregnancy modify aspects of fetal development in rats. *J Nutr* 125: 1617–1627, 1995.
 26. **Cordero Y, Mottola MF, Vargas J, Blanco M, Barakat R**. Exercise Is Associated with a Reduction in Gestational Diabetes Mellitus. *Med Sci Sports Exerc* 47: 1328–1333, 2015.
 27. **Dempsey JC, Butler CL, Sorensen TK, Lee IM, Thompson ML, Miller RS, Frederick IO, Williams MA**. A case-control study of maternal recreational physical activity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 66: 203–215, 2004.
 28. **Eclarinal JD, Zhu S, Baker MS, Piyarathna DB, Coarfa C, Fiorotto ML, Waterland RA**. Maternal exercise during pregnancy promotes physical activity in adult offspring. *FASEB J* 30: 2541–2548, 2016.
 29. **Edvardsson K, Ivarsson A, Eurenus E, Garvare R, Nystrom ME, Small R, Mogren I**. Giving offspring a healthy start: parents' experiences of health promotion and lifestyle change during pregnancy and early parenthood. *BMC Public Health* 11: 936, 2011.
 30. **Evenson KR, Barakat R, Brown WJ, Dargent-Molina P, Haruna M, Mikkelsen EM, Mottola MF, Owe KM, Rousham EK, Yeo S**. Guidelines for Physical Activity during Pregnancy: Comparisons From Around the World. *Am J Lifestyle Med* 8: 102–121, 2014.
 31. **Fernandez-Twinn DS, Wayman A, Ekizoglou S, Martin MS, Hales CN, Ozanne SE**. Maternal protein restriction leads to hyperinsulinemia and reduced insulin-signaling protein expression in 21-mo-old female rat offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R368–R373, 2005.
 32. **Funk KL, LeBlanc ES, Vesco KK, Stevens VJ**. Women's attitudes towards a pre-conception healthy lifestyle programme. *Clin Obes* 5: 67–71, 2015.
 33. **Ghosh P, Bitsanis D, Ghebremeskel K, Crawford MA, Poston L**. Abnormal aortic fatty acid composition and small artery function in offspring of rats fed a high fat diet in pregnancy. *J Physiol* 533: 815–822, 2001.
 34. **Gutkowska J, Paquette A, Wang D, Lavoie JM, Jankowski M**. Effect of exercise training on cardiac oxytocin and natriuretic peptide systems in ovariectomized rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R267–R275, 2007.
 35. **Hales CN, Barker DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C, Winter PD**. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* 303: 1019–1022, 1991.
 36. **Hanson MA, Gluckman PD**. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? *Physiol Rev* 94: 1027–1076, 2014.
 37. **Hopkins SA, Baldi JC, Cutfield WS, McCowan L, Hofman PL**. Exercise training in pregnancy reduces offspring size without changes in maternal insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 2080–2088, 2010.
 38. **Houghton PE, Mottola MF, Plust JH, Schachter CL**. Effect of maternal exercise on fetal and placental glycogen storage in the mature rat. *Can J Appl Physiol* 25: 443–452, 2000.
 39. **Huang HH, Novikova L, Williams SJ, Smirnova IV, Stehno-Bittel L**. Low insulin content of large islet population is present in situ and in isolated islets. *Islets* 3: 6–13, 2011.
 40. **Jones HN, Woollett LA, Barbour N, Prasad PD, Powell TL, Jansson T**. High-fat diet before and during pregnancy causes marked up-regulation of placental nutrient transport and fetal overgrowth in C57/BL6 mice. *FASEB J* 23: 271–278, 2009.
 41. **Kardel KR**. Effects of intense training during and after pregnancy in top-level athletes. *Scand J Med Sci Sports* 15: 79–86, 2005.
 42. **King JC**. Maternal obesity, metabolism, and pregnancy outcomes. *Annu Rev Nutr* 26: 271–291, 2006.
 43. **Lahaye Sle D, Gratas-Delamarche A, Malardé L, Vincent S, Zguira MS, Morel SL, Delamarche P, Zouhal H, Carré F, Bekono FR**. Intense exercise training induces adaptation in expression and responsiveness of cardiac beta-adrenoceptors in diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol* 9: 72, 2010.
 44. **Langley-Evans SC**. Nutritional programming of disease: unravelling the mechanism. *J Anat* 215: 36–51, 2009.
 45. **Langley-Evans SC, Jackson AA**. Rats with hypertension induced by in utero exposure to maternal low-protein diets fail to increase blood pressure in response to a high salt intake. *Ann Nutr Metab* 40: 1–9, 1996.
 46. **Langley SC, Jackson AA**. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin Sci (Lond)* 86: 217–222; discussion 121, 1994.
 47. **May LE, Allen JJ, Gustafson KM**. Fetal and maternal cardiac responses to physical activity and exercise during pregnancy. *Early Hum Dev* 94: 49–52, 2016.
 48. **McCance DR, Pettitt DJ, Hanson RL, Jacobsson LT, Knowler WC, Bennett PH**. Birth weight and non-insulin dependent diabetes: thrifty genotype, thrifty phenotype, or surviving small baby genotype? *BMJ* 308: 942–945, 1994.
 49. **McMillen IC, Robinson JS**. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev* 85: 571–633, 2005.
 50. **Mottola MF, Artal R**. Role of Exercise in Reducing Gestational Diabetes Mellitus. *Clin Obstet Gynecol* 59: 620–628, 2016.
 51. **Navarro-Tableros V, Fiordelisio T, Hernández-Cruz A, Hiriart M**. Physiological development of insulin secretion, calcium channels, and GLUT2 expression of pancreatic rat β -cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292: E1018–E1029, 2007.
 52. **Newsholme P, Cruzat V, Arfuso F, Keane K**. Nutrient regulation of insulin secretion and action. *J Endocrinol* 221: R105–R120, 2014.
 53. **Oken E, Ning Y, Rifas-Shiman SL, Radesky JS, Rich-Edwards JW, Gillman MW**. Associations of physical activity and inactivity before and during pregnancy with glucose tolerance. *Obstet Gynecol* 108: 1200–1207, 2006.
 54. **Osmond C, Barker DJ, Winter PD, Fall CH, Simmonds SJ**. Early growth and death from cardiovascular disease in women. *BMJ* 307: 1519–1524, 1993.
 55. **Parsons TJ, Power C, Manor O**. Fetal and early life growth and body mass index from birth to early adulthood in 1958 British cohort: longitudinal study. *BMJ* 323: 1331–1335, 2001.
 56. **Platt KM, Charnigo RJ, Kincer JF, Dickens BJ, Pearson KJ**. Controlled exercise is a safe pregnancy intervention in mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*: 524–530, 2013.
 57. **Raipuria M, Bahari H, Morris MJ**. Effects of maternal diet and exercise during pregnancy on glucose metabolism in skeletal muscle and fat of weanling rats. *PLoS One* 10: e0120980, 2015.
 58. **Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, Bleker OP**. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351: 173–177, 1998.
 59. **Ravelli AC, van Der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP**. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr* 70: 811–816, 1999.
 60. **Richter EA, Nielsen JN, Jorgensen SB, Frosig C, Birk JB, Wojtaszewski JF**. Exercise signalling to glucose transport in skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 63: 211–216, 2004.
 61. **Ruchat SM, Davenport MH, Giroux I, Hillier M, Batada A, Sopper MM, Hammond JA, Mottola M**. Walking program of low or vigorous intensity during pregnancy confers an aerobic benefit. *Int J Sports Med* 33: 661–666, 2012.
 62. **Ruchat SM, Davenport MH, Giroux I, Hillier M, Batada A, Sopper MM, McManus R, Hammond JA, Mottola MF**. Effect of exercise intensity and duration on capillary glucose responses in pregnant women

- at low and high risk for gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 28: 669–678, 2012.
64. **Salvesen KA, Hem E, Sundgot-Borgen J.** Fetal wellbeing may be compromised during strenuous exercise among pregnant elite athletes. *Br J Sports Med* 46: 279–283, 2012.
 65. **Samuelsson AM, Matthews PA, Argenton M, Christie MR, McConnell JM, Jansen EH, Piersma AH, Ozanne SE, Twinn DF, Remacle C, Rowlerson A, Poston L, Taylor PD.** Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension* 51: 383–392, 2008.
 66. **Snoeck A, Remacle C, Reusens B, Hoet JJ.** Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biol Neonate* 57: 107–118, 1990.
 67. **Sternfeld B, Quesenberry CP Jr, Eskenazi B, Newman LA.** Exercise during pregnancy and pregnancy outcome. *Med Sci Sports Exerc* 27: 634–640, 1995.
 68. **Steyn NP, Mann J, Bennett PH, Temple N, Zimmet P, Tuomilehto J, Lindstrom J, Louheranta A.** Diet, nutrition and the prevention of type 2 diabetes. *Public Health Nutr* 7: 147–165, 2004.
 69. **Stocker CJ, Cawthorne MA.** The influence of leptin on early life programming of obesity. *Trends Biotechnol* 26: 545–551, 2008.
 70. **Szymanski LM, Satin AJ.** Exercise during pregnancy: fetal responses to current public health guidelines. *Obstet Gynecol* 119: 603–610, 2012.
 71. **Szymanski LM, Satin AJ.** Strenuous exercise during pregnancy: is there a limit? *Am J Obstet Gynecol* 207: 179.e1–179.e6, 2012.
 72. **Tamashiro KL, Terrillion CE, Hyun J, Koenig JI, Moran TH.** Prenatal stress or high-fat diet increases susceptibility to diet-induced obesity in rat offspring. *Diabetes* 58: 1116–1125, 2009.
 73. **Taylor PD, McConnell J, Khan IY, Holemans K, Lawrence KM, Asare-Anane H, Persaud SJ, Jones PM, Petrie L, Hanson MA, Poston L.** Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R134–R139, 2005.
 74. **Triplitt C, Solis-Herrera C, Reasner C, DeFronzo RA, Cersosimo E.** *Classification of Diabetes Mellitus* (Online) (edited by De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar R, Singer F, Vinik A, and Weickert MO). South Dartmouth, MA: MDText.com, 2000.
 75. **Vehaskari VM, Aviles DH, Manning J.** Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney Int* 59: 238–245, 2001.
 76. **Vial G, Chauvin MA, Bendridi N, Durand A, Meugnier E, Madec AM, Bernoud-Hubac N, Pais de Barros JP, Fontaine E, Acquaviva C, Hallakou-Bozec S, Bolze S, Vidal H, Rieusset J.** Imeglimin normalizes glucose tolerance and insulin sensitivity and improves mitochondrial function in liver of a high-fat, high-sucrose diet mice model. *Diabetes* 64: 2254–2264, 2015.
 77. **Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O.** Intensity-controlled treadmill running in rats: $\dot{V}O_{2\max}$ and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1301–H1310, 2001.
 78. **Wojtaszewski JF, Hansen BF, Gade Kiens B, Markuns JF, Goodyear LJ, Richter EA.** Insulin signaling and insulin sensitivity after exercise in human skeletal muscle. *Diabetes* 49: 325–331, 2000.
 79. **Wolfe LA, Brenner IK, Mottola MF.** Maternal exercise, fetal well-being and pregnancy outcome. *Exerc Sport Sci Rev* 22: 145–194, 1994.
 - 79a. **World Health Organization.** *Global Report on Diabetes*. Geneva: 2016.
 80. **Xu PT, Song Z, Zhang WC, Jiao B, Yu ZB.** Impaired translocation of GLUT4 results in insulin resistance of atrophic soleus muscle. *Biomed Res Int* 2015: 291987, 2015.
 81. **Yajnik CS.** Nutrient-mediated teratogenesis and fuel-mediated teratogenesis: two pathways of intrauterine programming of diabetes. *Int J Gynaecol Obstet* 104, Suppl 1: S27–S31, 2009.
 82. **Yajnik CS, Fall CH, Vaidya U, Pandit AN, Bavdekar A, Bhat DS, Osmond C, Hales CN, Barker DJ.** Fetal growth and glucose and insulin metabolism in four-year-old Indian children. *Diabet Med* 12: 330–336, 1995.
 83. **Yoshihara H, Wakamatsu J, Kawabata F, Mori S, Haruno A, Hayashi T, Sekiguchi T, Mizunoya W, Tatsumi R, Ito T, Ikeuchi Y.** Beef extract supplementation increases leg muscle mass and modifies skeletal muscle fiber types in rats. *J Nutr Sci Vitam* 52: 183–193, 2006.
 84. **Zguira MS, Vincent S, Le Douairon Lahaye S, Malarde L, Tabka Z, Saïg B.** Intense exercise training is not effective to restore the endothelial NO-dependent relaxation in STZ-diabetic rat aorta. *Cardiovasc Diabetol* 12: 32, 2013.

Rapport d'évaluation du mémoire de thèse / Evaluation report of the PhD thesis

THES_FOR_10

Doctorant	Nom prénom / Full name	QUICLET Charline
PhD student	École doctorale / Doctoral School	Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement
	Titre thèse / PhD Title	Effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance : composition corporelle, fonction pancréatique et gestion des substrats énergétiques.
Rapporteur	Nom prénom / Full name	BOISSEAU Nathalie
Reviewer	Établissement / Institution	UFR STAPS Clermont-Ferrand, laboratoire AME2P
	Statut, fonction / Status, position	Professeur des Universités / STAPS

Qualité du mémoire, rédaction & illustrations / Thesis quality, style & illustrations

 Satisfaisant / Satisfactory [] Bon / Good [] Très bon / Very good [x] Excellent []

Commentaires/comments :

Il s'agit d'une thèse de Doctorat présentée au sein du Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée dans l'Ecole Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement à l'Université de Grenoble Alpes.

Le travail, sur un modèle animal, concerne les effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance, avec un focus portant sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques.

Les travaux réalisés ont donné lieu à un article publié en 1^{er} auteur par l'impétrante dans l'Am J Physiol Endocrinol Metab (IF₂₀₁₅: 2.91). Deux autres études présentées pourront mener à publications.

La thèse est intégralement rédigée en français. La présentation est classique, comportant deux parties. La première est une revue de littérature appelée « Introduction » d'environ 50 pages, la deuxième, de ± 120 pages, rapporte la contribution personnelle de la candidate. Le rapporteur tient à souligner la qualité du document, très bien écrit et présenté clairement.

Contexte, état de l'art, collaborations / Background, state of the art, collaborations :

Commentaires/comments :

La revue de littérature est abordée en deux grands chapitres. Elle traite successivement du pancréas, de l'insuline et de l'homéostasie énergétique puis, des origines développementales de la santé, de l'environnement maternel et de la programmation fœtale. L'activité physique est intégrée dans chacun des chapitres en lien avec i) l'insulino-résistance ou ii) du fait de son influence, sur la mère et/ou la descendance, si elle est pratiquée durant la gestation et/ou la lactation. Ces deux parties bibliographiques sont très bien rédigées, détaillées, riches d'informations et actualisées en rapport avec la littérature scientifique.

Qualité scientifique, méthodologie, expérimentations, validation

Scientific quality, methodology, experiments, validation

☞ Satisfaisant / Satisfactory [] Bon / Good [] Très bon / Very good [] Excellent [x]

Commentaires/comments :

La partie « matériels et méthodes » est très bien faite sur un plan rédactionnel. Les méthodologies décrites, extrêmement nombreuses, suggèrent une connaissance parfaite de l'étudiante quant aux outils considérés et laissent entrevoir la lourdeur du travail méthodologique entrepris sur ce travail de thèse. La contribution personnelle rapporte, sous la forme de 3 études, des travaux expérimentaux réalisés sur un modèle de rat(e) Wistar. Les travaux présentés sont bien écrits, les méthodologies utilisées sont adaptées et les discussions témoignent d'un bon degré de pertinence de l'étudiante.

**Apports personnels, originalité, valorisation, perspectives
Personal contributions, originality, valorization, prospects***Commentaires/comments :*

La conclusion générale et les perspectives sont quantitativement limitées (3 pages). Une réflexion globale sur l'ensemble du travail aurait été intéressante. Les perspectives se tournent plutôt sur des aspects épigénétiques mais sans propositions réelles ou protocoles envisagés.

Un bilan des répercussions de ces travaux dans le domaine des STAPS sera attendu lors de la soutenance

Conclusions du rapporteur / Reviewer's conclusions*Commentaires/comments :*

Après lecture du manuscrit, il s'avère que la candidate a brillamment réalisé une revue de la littérature sur « l'insulino-résistance, & l'homéostasie énergétique, les origines développementales de la santé, l'environnement maternel et la programmation fœtale » et qu'elle a su mener, via une maîtrise parfaite des techniques utilisées, des travaux expérimentaux portant sur « les effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance » avec un focus sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques.

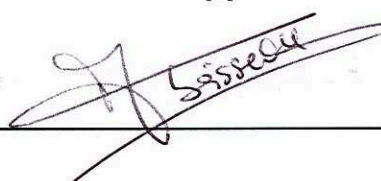
L'ensemble des études ici présentées a déjà donné lieu à une très belle publication et devrait permettre d'autres publications dans des revues indexées de bon voire très bon niveau.

En conclusion, le rapporteur donne un avis très favorable à la soutenance de thèse de Melle **Charline Quiclet**

Avis du rapporteur / Reviewer's opinion :

Défavorable à la soutenance / Unfavorable to the defence [] Favorable [x]

Date 26 septembre 2016 Signature

**Commentaires libres, questionnements, correction demandées
Free comments, questions, requested corrections**

OBJET : Rapport avant soutenance de Thèse de Doctorat de Sciences de M^{elle} Charline Quiclet dirigée par Mme Karine Couturier et Mr Christophe Pison.

Il s'agit d'une thèse de Doctorat présentée au sein du Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée dans l'Ecole Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement à l'Université de Grenoble Alpes.

Le travail, sur un modèle animal, concerne les effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance, avec un focus portant sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques.

Les travaux réalisés ont donné lieu à un article publié en 1^{er} auteur par l'impétrante dans l'Am J Physiol Endocrinol Metab (IF₂₀₁₅: 2.91). Deux autres études présentées pourront mener à publications.

La thèse est intégralement rédigée en français. La présentation est classique, comportant deux parties. La première est une revue de littérature appelée « Introduction » d'environ 50 pages, la deuxième, de ± 120 pages, rapporte la contribution personnelle de la candidate. Le rapporteur tient à souligner la qualité du document, très bien écrit et présenté clairement.

La revue de littérature est abordée en deux grands chapitres. Elle traite successivement du pancréas, de l'insuline et de l'homéostasie énergétique puis, des origines développementales de la santé, de l'environnement maternel et de la programmation fœtale. L'activité physique est intégrée dans chacun des chapitres en lien avec i) l'insulino-résistance ou ii) du fait de son influence, sur la mère et/ou la descendance, si elle est pratiquée durant la gestation et/ou la lactation. Ces deux parties bibliographiques sont très bien rédigées, détaillées, riches d'informations et actualisées en rapport avec la littérature scientifique.

Quelques remarques, critiques et/ou précisions peuvent toutefois être signalées pour enrichir le document.

- Une introduction générale (~ 2 pages) menant à la problématique et aux hypothèses aurait permis de clarifier en début de manuscrit les orientations du travail. Elle pourrait être ajoutée sur la version finale du manuscrit.
- L'influence de l'âge et surtout du sexe n'est pas abordée chapitre I, sous chapitre 6. Les spécificités de sensibilité à l'insuline chez la femme (au niveau musculaire et/ou du corps entier) sont importantes compte tenu de la thématique abordée.
- Chapitre 6.2 (p°14). Ce paragraphe est très bref compte tenu de la thématique traitée. Il conviendrait de comparer les effets de différentes modalités d'exercice sur l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (continu vs intermittent, résistance vs aérobie : volume, intensité ?). Un tableau récapitulatif pourrait permettre de compiler les données et justifierait peut-être le choix des modalités d'entraînement choisies dans les études. L'effet du « désentraînement » pourrait aussi être développé car le déconditionnement inhérent à la grossesse rejoint ce point.
- Aucune référence ne figure sur l'influence de l'âge de la mère sur i) sa sensibilité à l'insuline et le risque de grossesse pathologique et ii) sur les conséquences d'un âge avancé sur la descendance et la qualité du lait.
- Les fluctuations hormonales inhérentes à la grossesse ne sont jamais évoquées dans le document (exemple chapitre 2.4) or elles peuvent en partie expliquer des adaptations

métaboliques (via les fluctuations d'E2 en particulier) et des syndromes dépressifs ou anxieux (E2 et/ou progestérone et autres hormones).

Quelques points méritent d'être corrigés ou précisés dans le texte :

- p° 28 : la répartition en acides aminés et en nutriments ?
- p°33 : si la chaleur est traitée, l'altitude (hypoxie) devrait également figurer, au moins sur quelques lignes.
- p°35 : dans le tableau une coquille « activités aérobies ». Les volumes d'entraînement ne figurent pas dans le tableau. Les recommandations peuvent fluctuer sur les 9 mois de grossesse ce qui n'est pas mentionné ici.
- p°36 et suivantes : il conviendrait de préciser dans les études si les femmes sont suivies sur un plan alimentaire.
- p°39 : une seule étude est mentionnée chez l'animal or d'autres travaux existent y compris sur d'autres modalités d'exercice (exemple : Songstad et al. Plos one 2015 pour le HIIT).
- p°42 : l'exercice pratiqué en début de gestation : c'est-à-dire ? Idem pour l'exercice en résistance, c'est à dire : quoi, volume, intensité, fréquence ? idem p°45 : un exercice modéré sur tapis roulant : c'est-à-dire ?
- p°43 : l'utilisation des substrats n'est pas abordée or c'est un point développé dans les études proposées.

Partie II

La transition entre la revue de la littérature et les travaux expérimentaux ne laisse pas réellement entrevoir les questions précises posées.

Les objectifs de travail sont annoncés sans justification réelle des choix effectués. Compte tenu de l'ensemble de la revue de littérature, pourquoi un focus sur la fonction pancréatique et l'homéostasie glucido-lipidique ? Un schéma intégratif regroupant « les manques » de la littérature permettrait de guider le lecteur sur les 3 études et de développer les hypothèses attendues. La soutenance devrait pouvoir suppléer au manque, d'autant que chaque étude n'est pas précédée d'une introduction.

Les chronogrammes proposés sont appréciables. La partie « matériels et méthodes » est très bien faite sur un plan rédactionnel. Les méthodologies décrites, extrêmement nombreuses, suggèrent une connaissance parfaite de l'étudiante quant aux outils considérés et laissent entrevoir la lourdeur du travail méthodologique entrepris sur ce travail de thèse.

- Questions : Pour les trois études, pourquoi ne pas avoir utilisé l'AUC net quand les concentrations initiales sont significativement différentes ? Les corrélations ne sont pas mentionnées dans la partie « statistiques ». Sont-elles utilisées ?

La contribution personnelle rapportée, sous la forme de 3 études, des travaux expérimentaux réalisés sur un modèle de rat(e) Wistar. Les travaux présentés sont bien écrits, les méthodologies utilisées sont adaptées et les discussions témoignent d'un bon degré de pertinence de l'étudiante.

Sont présentées ici quelques remarques qui feront l'objet de discussions durant la soutenance. Certaines précisions/ajouts pourraient également être apportés au document.

Etude 1 :

- A poids similaire après lactation, si l'entraînement des rates a significativement diminué leur MG (g/kg), une prise de masse musculaire aurait pu être attendue ? En l'absence d'échoMRI ou de DXA, il convient de mentionner que le TA n'inclut pas le TA sous cutané. Les muscles représentent également une part limitée de la MMusc totale.
- Le travail portant, sur la composition corporelle (CC), l'échoMRI aurait été d'un intérêt majeur (avec une analyse de l'évolution de la CC au cours du temps pour la descendance).
- L'indice HOMA a-t-il été calculé ? donne-t-il des indications différentes comparées aux résultats de l'ipITT ?
- Pour chaque figure avec 4 histogrammes (ipGTT et ipITT), serait attendue un encadré mentionnant les significativités avec : l'effet Groupe, Temps et Groupe x Temps si l'Anova à deux voies à mesures répétées a été utilisée ? Par exemple, la comparaison dans le temps pour un même groupe ne figure pas ? La présentation des résultats laisse envisager une analyse en deux temps : comparaison CT vs TR à 4 mois puis 7 mois.
- Des résultats individuels (ou boîtes à moustache) auraient permis une interprétation plus fine des résultats obtenus (à la place des histogrammes qui ne montrent que des moyennes d'autant que les effectifs étaient faibles et que certains SEM, et non écart-types, paraissent élevés).
- $p^{°108}$: quid de l'effet temps ? interprétation ?
- Discussion : les cages calorimétriques auraient permis de répondre à certaines questions (QR de repos ou d'exercice de la descendance).
- La prise alimentaire de la mère a-t-elle été contrôlée ? cf $p^{°111}$ seconde ligne ? peut-on parler de balance énergétique négative dans le groupe TR alors que le poids des mères est similaire entre les groupes TR et CT ?
- Les TG hépatiques auraient été intéressants en effet.
- Quelle est l'activité des rats TR entre 21 jours et 7 mois ? ne peut-on imaginer qu'un profil actif de la mère ne serait bénéfique que si la descendance poursuit cette pratique et que dans le cas inverse, il devienne négatif ?

Etude 2 :

- Certaines remarques sont similaires à celles mentionnées dans l'étude 1.
- Une introduction et des hypothèses auraient été appréciées compte tenu de l'absence de publication en annexe.
- Les TA ne sont plus différents entre mères CT et TR, les poids obtenus sont plus beaucoup plus faibles (pourquoi des rates plus jeunes ?) ?
- Pour chaque figure, serait attendue un encadré avec l'effet Groupe (incluant le régime), l'effet temps et l'interaction (si l'Anova à deux voies à mesures répétées a été utilisée).
- La MG plus faible de la descendance ne prend pas en compte le TA sous-cutané.
- Pourquoi tester une glycémie de 6 et 16h ?

- p°125, l'AUC net permet-il de voir un maintien de la significativité entre CTHF et TRHF ?
- Les significativités des figures ne sont pas claires qui vs qui ?
- Des mesures de lipotoxicité musculaire de la descendance auraient eu un réel intérêt (cf discussion p°140, ligne 20). Le SO et l'état inflammatoire systémique aussi.

Etude 3 :

- Certaines remarques sont similaires à celles de l'étude 1 et 2. Une introduction et des hypothèses auraient été là aussi appréciées.
- L'absence de données (en attente) concernant la part lipidique du lait maternel rend l'étude en suspens. Ces données devraient pouvoir être apportées en soutenance (compte tenu des résultats envisagés pour Septembre).
- Les résultats concernant la séparation maternelle n'étaient peut-être pas attendus ? mais sont intéressants.
- Le niveau d'AP durant la gestation des mères n'est pas évoqué. Peut-on imaginer que des mères actives et qui continuent à l'être durant la lactation auraient pu avoir une descendance d'un poids moindre (similaire aux contrôles) ? quelles hypothèses ?

La conclusion générale et les perspectives sont quantitativement limitées. Il s'agit plutôt d'un bilan par étude et non d'une réflexion globale. Des questions générales restent posées : Quid de l'entraînement s'il est pratiqué en début, en milieu, voire en fin de grossesse (ou gestation) ? Quid des différentes modalités d'exercice ? Quid de l'âge de la mère ? Quid de l'AP & des apports alimentaires concomitants (aspects qualitatifs et quantitatifs) sur la qualité du lait et des effets sur la descendance ? ... Transposition possible du travail chez l'humain ? Un bilan des répercussions de ces travaux dans le domaine des STAPS pourrait être utile à la candidate en vue d'une demande de qualification en 74^{ème} section.

Les perspectives se tournent plutôt sur des aspects épigénétiques mais sans précisions réelles. Quelles seraient alors les hypothèses posées et les études à mener dans ce sens ?

Après lecture du manuscrit, il s'avère que la candidate a brillamment réalisé une revue de la littérature sur « l'insulino-résistance, & l'homéostasie énergétique, les origines développementales de la santé, l'environnement maternel et la programmation fœtale » et qu'elle a su mener, via une maîtrise parfaite des techniques utilisées, des travaux expérimentaux portant sur « les effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance » avec un focus sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques.

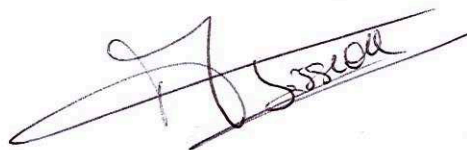
L'ensemble des études ici présentées a déjà donné lieu à une très belle publication et devrait permettre d'autres publications dans des revues indexées de bon voire très bon niveau.

En conclusion, le rapporteur donne un avis très favorable à la soutenance de thèse de Melle **Charline Quiclet**

Fait à Clermont-Ferrand,

Le 26 Septembre 2016

Nathalie BOISSEAU



Rapport sur la thèse de doctorat de M^{me} Charline QUICLET
présentée à l'Université de Grenoble-Alpes

Rapporteur : Dominique DARMAUN, Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, Université de Nantes

La thèse rédigée par Mme Charline QUICLET est intitulée 'Effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance : composition corporelle, fonction pancréatique et gestion des substrats énergétiques.

- I. La première partie bibliographique aborde successivement la physiologie de la sécrétion et des effets de l'insuline, puis le concept des origines développementales de la santé (DOHaD).

Ce long chapitre est globalement bien écrit et agréable à lire, et comprend une belle revue sur la sécrétion d'insuline.

On note cependant des inexactitudes ou omissions. Par exemple, l'effet principal de l'insuline sur le métabolisme protéique au niveau du corps entier est le freinage de la dégradation protéique, plutôt que la stimulation de la synthèse. La candidate ne mentionne pas que l'insuline maternelle ne passe pas le placenta. Il manque une description des effets métaboliques aigus de l'exercice, p.ex. hypoglycémie, qui pourrait entraîner une hypoglycémie fœtale durant la grossesse.

Le chapitre sur les origines développementales de la santé de l'adulte (DOHaD) est plus discutable.

On note quelques incompréhensions sur les critères qui distinguent un nouveau-né atteint de retard de croissance intra-utérin (RCIU) d'un nouveau-né petit pour l'âge gestationnel (page 23).

Ailleurs, la candidate mentionne qu'un faible IMC ($<25 \text{ kg/m}^2$) à la naissance double le risque de mortalité coronarienne par rapport à un $\text{IMC} > 29 \text{ kg/m}^2$ (page 35) : ces chiffres paraissent aberrants, l'IMC moyen [$3 \text{ kg}/(0.5 \text{ m})^2$] étant de 12 à la naissance. Il s'agit peut-être de l'index pondéral (poids/taille³) ? On note quelques maladresses de langage : p.ex., page 29, le mot 'abondant' devrait peut-être être remplacé par 'riche'.

Au total, cette revue bibliographique très vaste était sans doute un peu ambitieuse donc très difficile à synthétiser, et aurait pu se limiter au sujet de l'exercice pendant la gestation et la lactation, et citer simplement la définition du concept de DOHaD ou quelques articles de revue générale.

- II. Les travaux expérimentaux sont décrits dans la deuxième partie, qui comprend une suite cohérente de 3 études sur l'exercice chez la rate en période de gestation et de lactation, et sur les descendants, à court et à long terme.

- Le premier travail a porté sur l'effet sur la descendance d'un exercice sur tapis roulant motorisé débuté 26 jours avant la gestation et poursuivi jusqu'à 18 jours de gestation, à raison de 5 entraînements par semaine à 55 % de la vitesse maximale aérobie durant 1h. L'exercice semble avoir été bien toléré (pas de perte de poids) et efficace avec une modification de la composition corporelle des mères.

Sur les ratons au sevrage (21 jours), la candidate a observé une réduction de la glycémie de base et de la masse pancréatique, mais une tolérance au glucose normale mesurée par injection intra-péritonéale (ip) de glucose, et une capacité augmentée de sécrétion d'insuline sur les îlots de Langerhans isolés en culture *ex-vivo*.

A l'âge de 7 mois, la tolérance au glucose n'est pas affectée, mais les ratons nés de mère entraînés avaient une moins bonne sensibilité musculaire à l'insuline estimée par le rapport PKB phosphorylée /PKB totale.

L'étude est très intéressante et a été publiée dans *Am J Physiol*. Elle soulève cependant quelques interrogations sur les méthodes et l'interprétation des données. Pourquoi avoir utilisé la tolérance au glucose ip (IPGTT) plutôt que par voie orale (OGTT) ou intraveineuse (IVGTT)? Pourquoi avoir utilisé un test de tolérance à l'insuline intrapéritonéale plutôt que le clamp euglycémique? L'altération de l'ipGTT ne pourrait-elle pas refléter simplement une augmentation de l'apparition du glucose dans le sang périphérique, du fait d'une moindre masse grasse intrapéritonéale, ou d'une réduction de l'extraction splanchnique du glucose?

Les effets métaboliques observés sont-ils ceux du stress maternel ou bien les effets de l'exercice maternel? Un dosage de la 7β -ol-steroid dehydrogenase, marqueur de stress, serait utile.

La masse grasse tendait à être plus élevée dans le groupe de ratons nés de mère entraînés, ce qui est compatible avec l'insulinémie élevée : si la sensibilité à l'insuline conservée dans le tissu adipeux, alors ce dernier va pouvoir stocker davantage de graisses. Par ailleurs, les ratons n'augmentaient pas leurs ingesta et avaient un poids comparable aux ratons de mères sédentaires, ce qui suggère que les ratons nés de mères entraînés avaient une moindre dépense énergétique, possiblement par réduction de leur activité physique.

Enfin et surtout, il est dommage que le poids de naissance n'ait pas été mesuré. Il est possible que les ratons nés de mères entraînés aient eu un RCIU, suivi d'un rattrapage (*catch up growth*) post-natal. En effet, à 21 jours de vie, les ratons nés de mère entraînés pesaient 47 g (vs. 51 g pour les témoins), comme s'ils avaient eu un poids de naissance plus faible et étaient en phase de rattrapage. Dans les modèles 'classiques' de RCIU (induits par restriction des ingesta chez les mères gestantes), il faut une huitaine de jours pour rattraper, le *catch-up* pourrait être en cause dans les altérations du métabolisme glucidique à long terme chez les ratons une fois qu'ils atteignent l'âge adulte.

- La deuxième étude (article soumis pour publication ?) a porté sur les effets de l'entraînement maternel durant la gestation sur la composition corporelle, la tolérance au glucose et le métabolisme énergétique des ratons soumise à un régime gras et sucré (régime HF).

Le schéma expérimental est présenté avant la description des 3 études, mais gagnerait à être placé dans le texte immédiatement avant la présentation des résultats, comme cela se fait dans un article.

Ce travail montre que l'exercice maternel durant la gestation est associé à une moindre prise de poids des ratons, quel que soit le régime, et à une réduction de sa masse grasse lorsque les ratons sont exposés à un régime gras et sucré (HF). Là encore, il est dommage que les poids de naissance des ratons ne soient pas montrés.

- La troisième étude a porté sur les effets de l'entraînement maternel durant la lactation sur l'homéostasie du glucose et la fonction pancréatique des ratons.

Au sevrage, le lait maternel était plus riche en protéines chez les mères entraînées. La glycémie basale était plus basse et la capacité de sécrétion d'insuline plus élevée dans les îlots des ratons nés de mères entraînées. Cet effet pourrait être dû à l'effet d'un allaitement par un lait hyperprotéique sur le développement des cellules β documenté chez le raton par Delamaire et al (2012).

A 7 mois, les ratons nés de mère entraînée semblaient protégés de la résistance à l'insuline induite au niveau du muscle par la séparation maternelle.

Toutefois, ni au sevrage, ni à 7 mois, il n'y avait de différence sur la tolérance au glucose entre ratons allaités par des mères entraînées et ratons de mères sédentaires.

Certains aspects du schéma expérimental sont bien réfléchis : par exemple, les auteurs ont prévu un groupe '*sham*' de rates sédentaires mais séparées de leurs ratons pendant une durée équivalente à celle de l'entraînement dans le groupe '*exercice*', puisque la séparation mère/enfant est connue pour entraîner un stress majeur chez le raton. Toutefois, les effets potentiellement délétères de l'entraînement maternel pourraient être liés au fait que a) les mères étaient sédentaires avant la lactation ; et b) l'intensité de l'entraînement était peut-être excessive. Un schéma établissant une '*courbe dose-réponse*' en fonction du niveau d'entraînement pourrait être imaginé.

Au total, la thèse présentée par Charline QUICLET représente une masse impressionnante de données acquises dans un domaine où la littérature était, à ma connaissance, très pauvre. La démarche expérimentale en est rigoureuse et réfléchie, les approches utilisées le plus souvent adéquates. Les conclusions soulèvent des questions pertinentes sur les recommandations concernant l'exercice physique pendant la grossesse et la lactation chez la femme. Malgré quelques imperfections dans la présentation des résultats et leur interprétation, il s'agit donc d'une contribution significative et potentiellement importante dans le domaine. C'est pourquoi j'émet un avis très favorable à la soutenance de cette thèse.

Fait à Nantes le 29 septembre 2016



Dominique DARMAUN
Professeur des Universités-Praticien Hospitalier
CHU de NANTES

Effets de l'entraînement physique périnatal sur la santé métabolique de la descendance: composition corporelle, fonction pancréatique et gestion des substrats énergétiques.

Les maladies métaboliques sont en pleine expansion dans nos sociétés actuelles et constituent un enjeu de santé publique majeur. Les antécédents familiaux, l'environnement et les habitudes de vie de l'individu vont jouer un rôle dans la susceptibilité à certains de ces désordres métaboliques. Sur la base de données épidémiologiques, un lien a été établi entre environnement durant les premières phases de la vie et survenue de pathologies à l'âge adulte conduisant au concept de DOHaD. L'objectif de ce travail était d'étudier, à partir d'un modèle murin, les conséquences de l'exercice physique quotidien de la mère pendant la gestation ou la lactation sur la composition corporelle, la fonction pancréatique et la gestion des substrats énergétiques de la descendance à plus ou moins long terme. L'entraînement maternel avant et pendant la gestation est associé à des modifications de la structure et de la fonction du pancréas de la descendance et semble modifier sa gestion des substrats énergétiques à tous les âges. L'exercice de la mère est également associé à une moindre prise de poids de la descendance et limite sa prise de masse grasse lorsqu'elle est soumise à un régime gras et sucré. L'exercice physique de la mère durant la lactation va modifier la composition du lait et la fonction pancréatique de la descendance. Cependant, il est associé à une augmentation du poids corporel de la descendance adulte mais semble la protéger contre l'insulino-résistance induite par la séparation maternelle. La pratique d'un exercice physique quotidien pendant la gestation et/ou la lactation semble donc modifier le développement et la maturation de certains organes (pancréas, tissu adipeux, foie, muscle squelettique) de la descendance ainsi que sa gestion des substrats énergétiques. Les conséquences de cet entraînement maternel sur la descendance vont être plus ou moins bénéfiques selon son âge et selon son environnement nutritionnel. Ce travail de thèse vient compléter les travaux menés dans le cadre des DOHaD et renforce l'idée que l'environnement lors des premières phases de la vie va avoir des conséquences à plus ou moins long terme sur la santé de l'individu.

Mots-clés : exercice, gestation, lactation, descendance, pancréas, glucides, lipides

Effects of perinatal exercise on offspring metabolic health: body composition, pancreatic function and energy substrates management.

Prevalence of metabolic diseases is growing up in our modern societies and constitutes a major public health concern. Family history, environment and lifestyle play a role in the susceptibility to several metabolic disorders. Based on epidemiological data, a link has been established between the environment during the first stages of life and diseases occurrence in adulthood leading to the concept of DOHaD. The aim of this work was to study, using a murine model, the effect of daily maternal exercise during gestation or lactation on offspring body composition, pancreatic function and energy substrates handling on a short- and a long-term basis. Maternal training before and during gestation is associated with changes in offspring pancreas structure and function and in energy substrates handling at all ages. Maternal exercise also decreases offspring body weight gain and fat mass gain when exposed to a high-fat/high sucrose diet. Maternal physical exercise during lactation modifies milk composition and offspring pancreatic function. However, it is associated to an increase in offspring body weight in adulthood but seems to protect against the insulin resistance induced by maternal separation. In conclusion, daily physical exercise during gestation and/or lactation modifies offspring organs development and maturation (such as pancreas, adipose tissue, liver, skeletal muscle) and its energy substrates handling. Maternal training consequences on offspring can be either beneficial or deleterious depending on its age and on its nutritional environment. This work is complementary to studies conducted in the framework of the DOHaD concept and strengthens the idea that the environment during the first stages of life will have short- to long-term impacts on the health of the individual.

Key words: exercise, gestation, lactation, offspring, pancreas, carbohydrates, lipids