

Ministère de la Défense

DIRECTION CENTRALE DU SERVICE DE SANTE DES ARMEES

**CENTRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES
DE MEDECINE AEROSPATIALE**

Laboratoire Central de Biologie Aérospatiale

DIVISION DE PHYSIOLOGIE METABOLIQUE ET HORMONALE

Auteurs

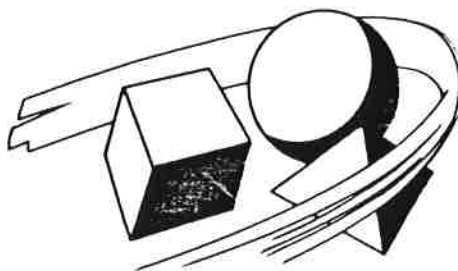
Médecin en Chef GUEZENNEC Charles Yannick
PCP DOUCE
Pr ROSSI A. M.P. LAVIER
Pr COMETTI G. M. LEVEILLE-NIZEROLE
MC BIGARD A.X. M. LA DROITTE
Mme SATABIN P.

Titre

ETUDE DU ROLE DES APPORTS PROTEIQUES ALIMENTAIRES
SUR LA REPONSE A L'ENTRAINEMENT PHYSIQUE

n°

C.E.R.M.A. n° 92/10 (L.C.B.A.)



26, Boulevard Victor
00460 Armées

Convention de Recherche DRET n° 90.1031

Ministère de la Défense

DIRECTION CENTRALE DU SERVICE DE SANTE DES ARMEES

**CENTRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES
DE MEDECINE AEROSPATIALE**

Laboratoire Central de Biologie Aéronautique

DIVISION DE PHYSIOLOGIE METABOLIQUE ET HORMONALE

Auteurs

Médecin en Chef GUEZENNEC Charles Yannick
PCP DOUCE
Pr. ROSSI A. MP. LAVIER
Pr. COMETTI G. M. LEVEILLE-NIZEROLE
MC. BIGARD A.X. M. LA DROITTE
Mme SATABIN P.

Titre

ETUDE DU ROLE DES APPORTS PROTEIQUES ALIMENTAIRES
SUR LA REPOSE A L'ENTRAINEMENT PHYSIQUE

n°

C.E.R.M.A. n° 92/10 (L.C.B.A.)

Le Médecin Chef des Services SANTUCCI

*Sous-Directeur
chargé de la Recherche*



Le Médecin Général Inspecteur LEGUAY

*Directeur de l'Ecole d'Application du Service de Santé
pour l'Armée de l'Air
et du Centre d'Etudes et de Recherches de Médecine Aéronautique*



Fiche bibliographique d'exploitation

| | |
|---|---|
| Date de publication ou de diffusion | - - JUL. 1992 |
| Auteur principal | Médecin en Chef C.Y. GUEZENNEC |
| Auteurs associés | PCP DOUCE MP LAVIER Pr ROSSI A. M. LEVEILLE-NIZEROLE Pr COMETTI G. M. LA DROITTE MC BIGARD A.X. Mme SATABIN P. |
| Titre | ETUDE DU ROLE DES APPORTS PROTEIQUES ALIMENTAIRES SUR LA REONSE A L'ENTRAINEMENT PHYSIQUE |
| Mots clés | NUTRITION - PROTEINES - EXERCICE MUSCULAIRE - ALTITUDE - ELECTROSTIMULATION - METABOLISME RMN |
| Indications d'identification | C.E.R.M.A. n° 92/10 (L.C.B.A.) |
| Organisme et lieu de réalisation du travail | - C.E.R.M.A. - Div. Physiologie Métabolique et Hormonale et div. Chimie-Toxicologie - Université Jean-Fourier - Laboratoire de Physiologie Cellulaire - 38011 GRENOBLE - UFR STAPS Université de Bourgogne - BP 138 21004 DIJON CEDEX |
| Organismes associés | - Laboratoire Paraphar, 10 rue Valet - Paris 15° - Ecole Militaire de Haute Montagne - CHAMONIX |
| Origine de l'étude | Contrat DRET n° 90-1031 |
| Degré de classification | / |
| Etat d'avancement du travail | FINAL |
| Publications antérieures en relation avec le sujet | |

III | TROISIEME ETUDE

ETUDE DES EFFETS DE L'ADMINISTRATION PROLONGEE D'ACIDES AMINES BRANCHES SUR LE METABOLISME DE LA ¹³C LEUCINE EN PHASE DE RECUPERATION

A - INTRODUCTION

Il a été démontré que la pratique d'un exercice musculaire prolongé est susceptible d'augmenter le besoin protéique. La comparaison des données de la littérature a fait l'objet d'une revue de questions (Guezennec, 1989), elle permet de fixer le besoin autour de $1.6 \text{ g.kg}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ de protéine. Un apport protéique au dessus de l'apport moyen de la ration alimentaire semble nécessaire pour équilibrer la balance azotée. En phase d'exercice musculaire, l'augmentation du besoin protéique correspond à une accélération de l'oxydation des acides aminés et plus particulièrement des acides aminés branchés ; en phase de récupération, le phénomène inverse se produit et les acides aminés sont orientés vers les synthèses (Carraro et coll., 1990a et 1990b). La question se pose de définir le rôle spécifique d'une administration prolongée d'acides aminés branchés sur le métabolisme en phase de récupération.

On peut formuler deux hypothèses à priori. Il a été démontré que les acides aminés branchés administrés de façon prolongée augmentent l'activité d'une enzyme clé qui règle leur oxydation, la déshydrogénase des acides aminés branchés dans le muscle (Aftring et coll., 1986). Par ailleurs, l'exercice musculaire active cette enzyme (Kasperek et Snider, 1987). L'effet cumulatif de l'exercice musculaire et de l'apport chronique d'AAB peut accroître le métabolisme oxydatif de la leucine et améliorer le fonctionnement du cycle de Krebs (Hood et Terjung, 1991).

Par ailleurs, l'administration de leucine stimule les synthèses protéiques indépendamment des phénomènes oxydatifs. Cet effet est susceptible d'accroître la resynthèse des réserves protéiques en phase de récupération.

Il est donc possible de suggérer un rôle favorable d'un apport d'acides aminés branchés sur la capacité de récupération après un exercice physique prolongé. Dans ce but, une expérimentation a été réalisée lors de la réalisation d'un exercice prolongé. Ce type d'exercice stimule l'utilisation des acides aminés. Pendant la phase de récupération, les processus d'utilisation des acides aminés branchés participent aux resynthèses des réserves énergétiques.

B- MATERIELS ET METHODE

1. - SUJETS

Une population de 6 sujets masculins d'âge moyen de 36.7 ± 2.9 ans et de poids moyen 74 ± 2 kg a participé à cette étude après avoir donné leur consentement.

2. DÉTERMINATION DE LA VO2 MAX

Elle a été réalisée sur ergocycle lors d'une épreuve triangulaire et par mesure directe à l'aide d'une chaîne de mesure M.M.C. Horizon TM Système Beckman fonctionnant en circuit ouvert. Le protocole a consisté à augmenter la puissance développée sur la bicyclette de 20 W toutes les minutes jusqu'à épuisement. L'exercice permet la détermination de la puissance maximale aérobie, puissance mécanique développée au cours de l'exercice exhaustif.

3. COMPLÉMENTATION NUTRITIONNELLE

Les sujets ont pris pendant trois semaines une complémentation protéique correspondant à 0.6 g/kg corporel/24 h soit 4 sachets/jour fournis par l'industrie "PARAPHAR" dont la composition est donnée dans le tableau 2 de la deuxième étude. Deux situations nutritionnelles ont été étudiées :

- un régime normo-protéique correspondant au régime normal du sujet, soit environ 1 g/kg corporel/jour de protéines ,
- un régime hyperprotéique avec une complémentation protéique correspondant à 0.6 g/kg corporel/jour de protéines soit un apport d'environ 1.6 g/kg corporel/jour de protéines.

4. EPREUVE

A l'issue de 3 semaines de régime, les sujets sont conviés au laboratoire à 8 heures du matin après avoir pris un petit déjeuner standard constitué d'un café ou d'un thé et de 3 tartines de pain avec un peu de confiture. Nous avons insisté pour que les sujets absorbent ni laitage (apport de protéines exogènes) ni céréales à base de maïs (céréale riche en carbone 13) le matin de l'expérimentation afin de ne pas modifier les paramètres mesurés ultérieurement décrits. Puis les sujets ont effectué trois épreuves d'effort :

4.1. - TEST D'APTITUDE ANAÉROBIE BASAL

Après 15 minutes de repos, les sujets ont effectué un test d'aptitude anaérobie : exercice de développement de force réalisé sur un ergomètre isocinétique (Cybex). Le groupe musculaire testé est celui des extenseurs de la jambe (groupe du quadriceps), le sujet étant sanglé et maintenu en position assise. Le test consiste dans un premier temps à déterminer la force maximale volontaire (FMV) d'extension de la jambe en

isométrie, l'articulation du genou étant fixée à 120 degrés, 5 essais successifs sont réalisés avec des temps de récupération adéquats, la meilleure performance étant retenue comme approchant la FMV.

Dans un deuxième temps et après un temps de repos suffisant, les sujets réalisent un exercice de maintien de 50 % de la FMV en isométrie, dans les mêmes conditions angulaires et de contention sur le siège. Une estimation du temps maximal de maintien de cette force permet alors une approche indirecte du métabolisme anaérobie et permet d'appréhender indirectement l'effet d'une complémentation hyperprotéique sur les réserves glycogéniques musculaires. En effet, il a été démontré que le temps de maintien est corrélé avec les stocks glycogéniques musculaires ; plus les réserves glycogéniques musculaires sont élevées, meilleur sera le temps de maintien.

4.2. EXERCICE PHYSIQUE PROLONGÉ

Après ce test d'aptitude anaérobie, les sujets ont effectué une épreuve d'endurance de 1 h 30 min. sur un ergocycle à 60 % de leur VO₂ max précédemment déterminée par une épreuve triangulaire. Les paramètres du métabolisme respiratoire (VO₂, VCO₂, QR) ont été mesurés au repos et toutes les 30 minutes pendant toute la durée de l'exercice par mesure directe à l'aide d'une chaîne de mesure M.M.C. Horizon (TM Système Beckman) fonctionnant en circuit ouvert.

4.3. TEST D'APTITUDE ANAÉROBIE APRES EFFORT

Après cet exercice de longue durée, les sujets ont fait à nouveau un test d'aptitude anaérobie sur cybex (précédemment décrit).

5. - ESTIMATION DU TAUX DE RENOUVELLEMENT DES PROTÉINES À L'ISSUE D'UN EXERCICE PHYSIQUE DE LONGUE DURÉE

5.1. UTILISATION DES TRACEURS POUR L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME PROTÉIQUE

Dans l'organisme, les molécules d'un substrat donné sont réparties dans un ou plusieurs compartiments (pool) tels qu'à l'intérieur d'un compartiment, les molécules possèdent une probabilité identique d'emprunter les mêmes voies métaboliques. Lorsqu'un substrat est en état stationnaire, la taille du compartiment est donc constante. Si l'on considère par exemple les protéines, on pourra distinguer un certain nombre de compartiments, muscles, sang, foie, etc. Comme la plupart des espèces moléculaires sont véhiculées par le sang, celui-ci est un accès privilégié aux compartiments ; cependant, le sang est très rarement assimilable à un compartiment.

Afin de suivre le devenir d'une molécule dans l'organisme, il est nécessaire de la reconnaître parmi d'autres, d'où l'idée d'utiliser un traceur, molécule semblable à celle étudiée d'un point de vue du devenir métabolique mais identifiable grâce à une caractéristique donnée. Les isotopes, stables ou radioactifs, répondent à

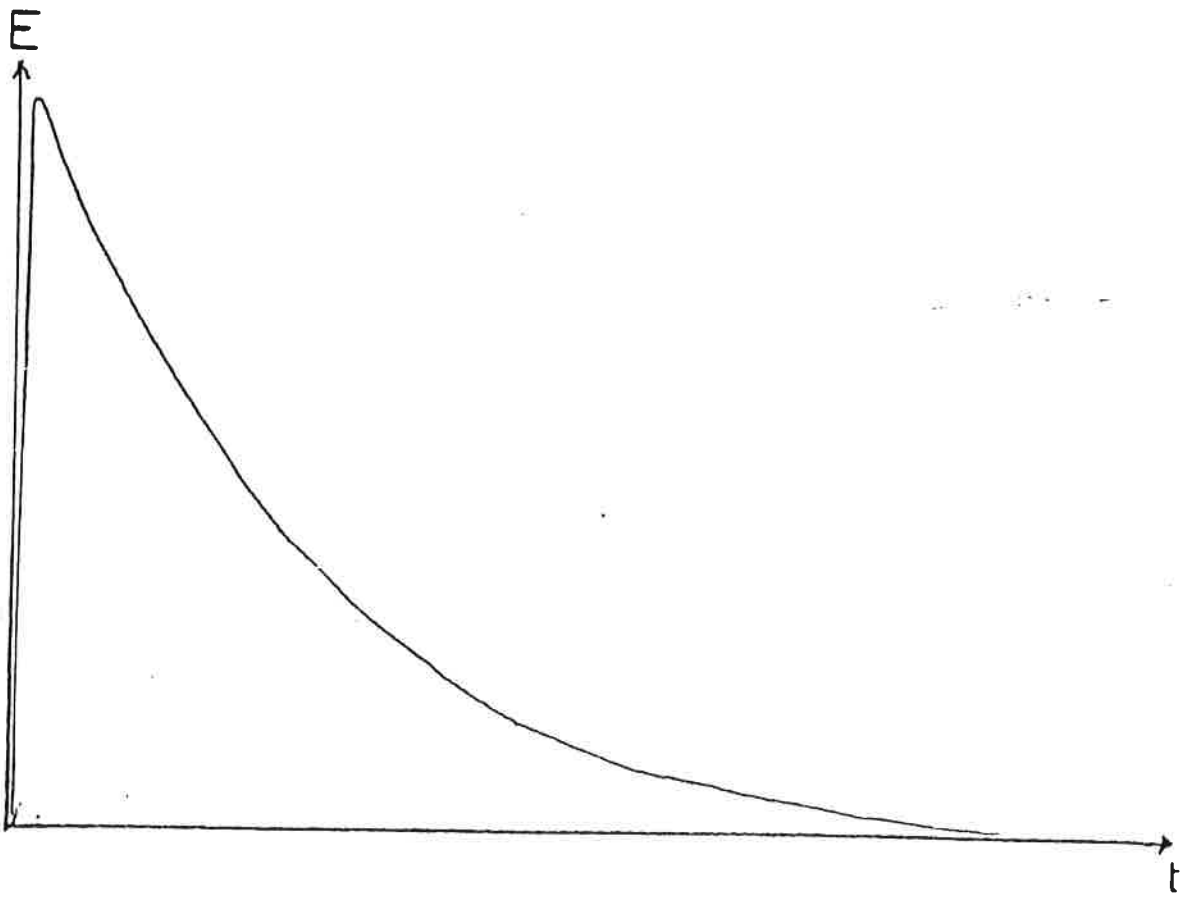
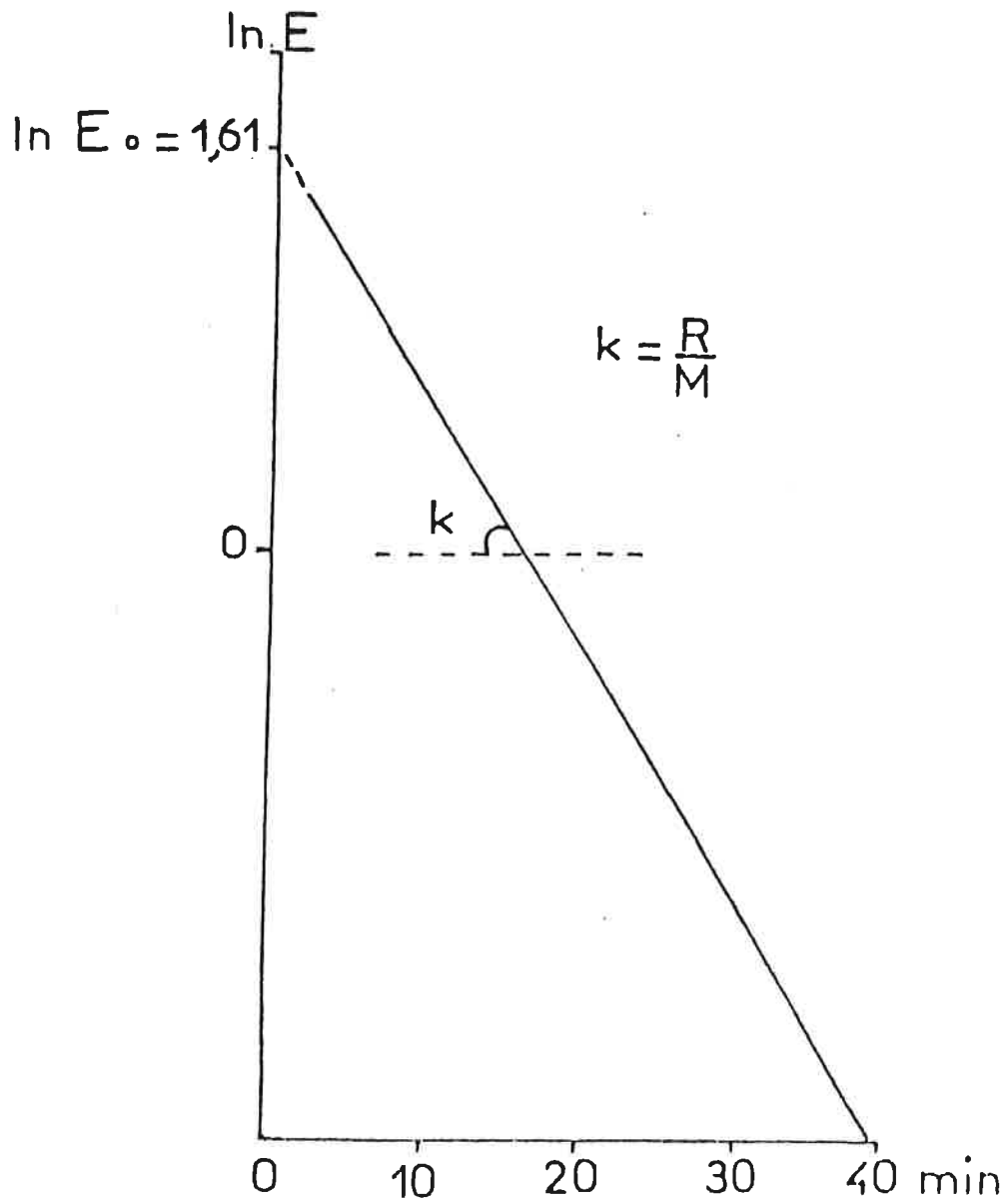


Figure 1 : Courbe de décroissance de l'enrichissement plasmatique d'une molécule.

Figure 2 : Expression logarithmique de la courbe de décroissance de l'enrichissement plasmatique d'une molécule.



cette notion de traceur, car on peut les identifier respectivement à l'aide d'un spectrographe de masse ou d'un compteur de radioactivité mais, leur discrimination dans les voies métaboliques (effet isotopique) est minime.

Comme les moyens permettant la détection de ces isotopes sont très sensibles, les quantités injectées peuvent être faibles ce qui est essentiel pour ne pas modifier la taille du pool et donc l'état stationnaire. Les isotopes stables présentent un certain nombre d'avantages par rapport aux isotopes radioactifs alors que le prix de revient est sensiblement équivalent. L'effet isotopique est plus faible, leur innocuité permet de les employer dans des études cliniques et ils permettent d'éviter les problèmes de pollution posés par l'évacuation des déchets radioactifs. Deux grands principes de mesure du taux de renouvellement sont couramment utilisés : la technique de simple injection et la technique de perfusion continue du traceur.

Nous avons utilisé la technique de simple injection.

5.2. - TECHNIQUE DE SIMPLE INJECTION DU TRACEUR

Considérons une molécule G, répartie dans un unique compartiment, de taille (nombre de molécules) M, en état stationnaire. L'apparition (production) de cette molécule par unité de temps, Ra (qui peut être la somme de plusieurs entrées Ra₁, Ra₂, etc.) est égale à sa vitesse de disparition (utilisation) Rd (qui peut être la somme de plusieurs sorties Rd₁, Rd₂, etc.) et est égale à R, taux de renouvellement. On injecte rapidement une quantité traceur (c'est à dire ne modifiant pas la taille du compartiment) d'un isotope stable de G, d'enrichissement total X₀ et l'on admet une répartition homogène et instantanée du traceur dans le compartiment. La fraction k de l'enrichissement X quittant le compartiment pendant un intervalle de temps dt est égale à la fraction de la molécule non-marquée (tracée) G quittant ou entrant dans le compartiment pendant le même intervalle.

On peut écrire : $\frac{dx}{dt} = -kx$, le signe négatif exprimant la diminution de l'enrichissement. En tenant

dt

compte du fait qu'au temps t = 0, X = X₀, on peut intégrer $\frac{dx}{x} = -kdt$ et l'on obtient X(t) = X₀e^{-kt}. Si l'on est

x

en état stationnaire, la taille M du compartiment est constante et l'on peut diviser chaque terme de l'équation par

M : $\frac{X}{M} = \frac{X_0}{M} e^{-kt}$. Le terme $\frac{X}{M}$ est l'expression de l'enrichissement de la molécule, c'est à dire le rapport de

M M M

l'enrichissement du traceur à la masse de la molécule tracée, donc : E = E₀e^{-kt} ou E₀ représente l'enrichissement au temps 0. Avec cette technique, on obtient une courbe de décroissance de l'enrichissement du type de celle représentée dans la figure 1. Dans cette représentation, k n'apparaît pas simplement. Par contre, si l'on prend l'expression logarithmique de l'équation E = E₀e^{-kt}, on obtient : lnE = -kt + lnE₀, équivalente à l'équation d'une droite (figure 2) et E₀ son prolongement à l'origine. Pour connaître R, il faut déterminer la taille M du compartiment puisque R = kM. Si on connaît le volume V de distribution de G dans l'organisme et sa

concentration C, on peut calculer $M = C \times V$. Si V n'est pas connu, on a recours au principe de dilution. En effet, l'enrichissement extrapolé au temps 0 est égal à $\frac{X_0}{M}$ (figure 2). Comme X_0 (enrichissement injecté) est connu $M = \frac{X_0}{E}$.

E

L'analyse précédente est basée sur l'existence d'un compartiment unique et d'une répartition instantanée de l'isotope dans le pool. Par contre, s'il existe plusieurs compartiments, comme c'est le cas pour la plupart des espèces moléculaires, il faut ajuster la courbe expérimentale de l'enrichissement par une somme d'exponentielles (approche multi-compartimentale). Cet ajustement est en fait souvent arbitraire et dépend essentiellement du degré de l'erreur expérimentale. L'approche non-compartimentale peut être alors plus indiquée. On démontre que, quel que soit le nombre de compartiments, le taux de renouvellement R est égal à l'enrichissement injecté X_0 divisé par l'intégrale de zéro à l'infini de l'enrichissement spécifique, $R = \frac{X_0}{E(t)}$

E(t)

l'intégrale peut être estimée graphiquement car il s'agit de la surface sous-tendue par la courbe de l'enrichissement spécifique. L'extension de ce modèle mathématique à l'organisme vivant nécessite les postulats suivants :

- a) il existe un compartiment central unique de la substance à étudier, aussi bien sur le plan physique (il faut que la substance circule librement dans tout l'organisme, allant d'un secteur à un autre, d'un organe à un autre, sans frein ni facilitation) que sur le plan métabolique (même devenir métabolique pour la totalité des molécules de substance tracée),
- b) l'organisme est à l'état stable pour la substance tracée, c'est à dire que les flux de tracé entrant dans le compartiment central et en sortant sont égaux (pas d'accroissement ni de diminution de la taille du compartiment central durant les mesures) ; en pratique, la concentration sanguine de la substance tracée, non marquée, doit être stable (variation inférieure à 10 %) durant l'épreuve.
- c) la substance traceuse doit avoir le même devenir métabolique et physique que la substance tracée (absence de discrimination par l'organisme entre substrat marqué et substrat non marqué qui entraînerait un devenir différent de celui de la substance tracée ou un "tri" métabolique entre les deux substances).
- d) la quantité de substance traceuse nécessaire pour les mesures doit pouvoir être suffisamment faible pour ne pas modifier la taille du compartiment central ou les flux de la substance tracée.
- e) il faut pouvoir accéder au compartiment central - pour mesurer le rapport de "concentration" traceur/tracé - ce qui implique en pratique que le secteur vasculaire soit partie intégrante et indifférenciée du compartiment central.

5.3. - TECHNIQUE BASÉE SUR L'UTILISATION DE LA 13C LEUCINE

La leucine est l'un des trois acides aminés essentiels ramifiés (leucine, valine, isoleucine). Il n'est pas synthétisé par l'organisme. Son catabolisme passe par une transamination avec formation de céto-iso-caproate (K.I.C.), cette étape étant réversible. Le radical carboné, ainsi formé, peut être utilisé dans des voies métaboliques énergétiques (cétogénèse, cycle de Krebs) ou être réanimé, dans la cellule, pour former de la leucine utilisée pour la synthèse protéique, essentiellement dans le muscle. L'autre devenir du K.I.C. est de subir une décarboxylation, étape irréversible et limitante, suivie de la dégradation complète de la molécule en CO₂. En pratique, la leucine entrant dans le compartiment central provient de deux sources : apports exogènes alimentaires (I : intake) et catabolisme protéique (B : breakdown) et elle en sort par deux voies : synthèse protéique (S : synthesis) et dégradation oxydative (C : catabolisme) (figure 3). Si l'on peut reconnaître la molécule de CO₂ issue de la décarboxylation de la leucine et en mesurer le flux dans l'organisme et que parallèlement on mesure les flux de leucine entrant et sortant du compartiment central de leucine, on peut connaître les flux de leucine allant vers la synthèse protéique et provenant du catabolisme protéique :

$$Ra = Rd = C + S = I + B$$

La technique consiste donc, en utilisant comme traceur la leucine marquée à 13C sur le carbone perdu lors de l'oxydation (I - 13C leucine), et à mesurer les flux de leucine entrant dans le pool et en sortant (Ra et Rd) et le flux de 13CO₂ sortant de l'organisme (C). Le débit d'apport (I) étant connu, on en déduit S et B, flux représentant l'implication de la leucine dans la synthèse et la dégradation protéique. Si on considère que la leucine est un acide aminé essentiel, présente en grande quantité dans le muscle, on obtient ainsi un reflet de l'état métabolique du muscle, pour ce qui concerne la synthèse et la dégradation protéique à ce niveau.

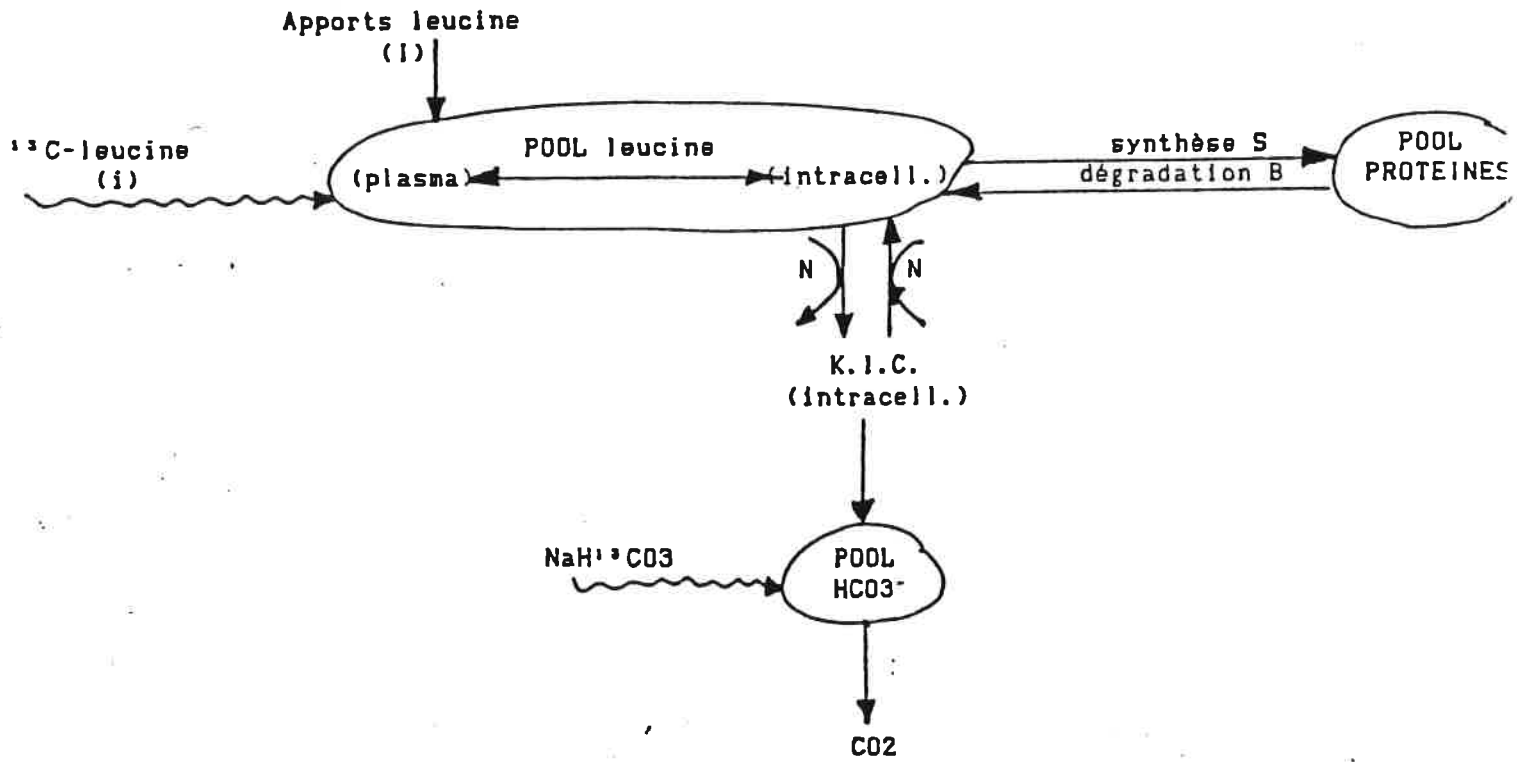
5.4. RÉALISATION PRATIQUE

5.4.1. BOLUS DE L-1-13 C LEUCINE

A la fin des épreuves physiques décrites dans le chapitre 2.4, soit dès le début de la période de récupération, un bolus de leucine 13C a été injecté par voie veineuse dans le pli du coude (120 mg de L-1-13C-leucine dans 15 ml de sérum physiologique pour un homme de 70 kg) correspondant à un bolus de 20 μ mol/kg en moins de 3 sec. suivi par 50 ml de sérum physiologique pour rincer la veine. La décroissance plasmatique de l'enrichissement en 13C-leucine a été suivie pendant 120 minutes par des prélèvements veineux dans le bras opposé à celui de l'injection (5 ml) aux temps suivants : 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 30, 45, 60, 90 et 120 minutes après le bolus de 1-13C leucine.

Figure 3

MODELE COMPARTIMENTAL DES FLUX DE LEUCINE



5.4.2. MESURE DE L'ENRICHISSEMENT PLASMATIQUE

Les prélèvements sanguins ont été immédiatement centrifugés et le plasma congelé à - 80°C pour une étude ultérieure simultanée de l'ensemble des prélèvements, comprenant une séparation de la leucine des acides aminés totaux du plasma et une transformation de la leucine permettant l'analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse du rapport ^{13}C leucine sur ^{12}C leucine plasmatique.

5.4.2.1. Séparation de la leucine des acides aminés totaux plasmatiques

500 μl de plasma ont été acidifiés par l'ajout de 10 μl d'HCL 3N et de 1 ml d'HCL 0.01 N. Cet échantillon est ensuite déposé sur une colonne échangeuse d'ions préparée de la façon suivante : sur une pipette pasteur de 0.5 cm de diamètre, bouchée avec de la laine de verre, on a versé 1 ml d'une résine échangeuse d'ions DOWEX AG 50 WX-8, 200-400 mesh hydrogen form, BIORAD) acidifiée (pH = 1). Ensuite la colonne est rincée successivement par 1 ml d'HCl 0,01 M et 1 ml d' H_2O bidistillée. Puis la colonne est éluée par 1 ml de NH_4OH , 9N et la leucine est décrochée de la colonne par le passage d'un deuxième ml de NH_4OH 9N. Cet éluat est recueilli dans des flacons à dérivation puis évaporé sous azote. Nous avons testé les colonnes en ajoutant des quantités connues de leucine ^{14}C . Le rendement d'extraction est de 91 %.

5.4.2.2. Dérivation de la leucine (Figure 4)

Cette étape est la seule qui soit spécifique de l'acide aminé étudié. En effet, l'étude en C.G.S.M. du rapport isotopique impose que la molécule d'acide aminé soit volatile (chromatographie gazeuse) ; de plus, elle entraîne une fracture de la molécule en plusieurs fragments sur lesquels porte l'analyse en spectrométrie de masse. Il faut pouvoir obtenir un fragment contenant le carbone marqué.

La dérivation consiste donc à soumettre l'acide aminé à des réactions chimiques qui masquent ses groupes polaires par des chaînons alkylés, par exemple N-acétyl-propylester (N.A.P.-alanine) ou trifluoro-acétyl-butylester (T.F.A.B.-leucine).

a) Réaction de butylation: L'éluat sec est repris avec 400 μl de HCL 3N dilué au 1/4 dans le butanol, agité au vortex, soniqué 10 minutes puis incubé 30 minutes à 110°C dans un bain-marie. Après l'incubation, l'échantillon est évaporé puis repris avec 200 μl de CH_2Cl_2 et ensuite à nouveau évaporé.

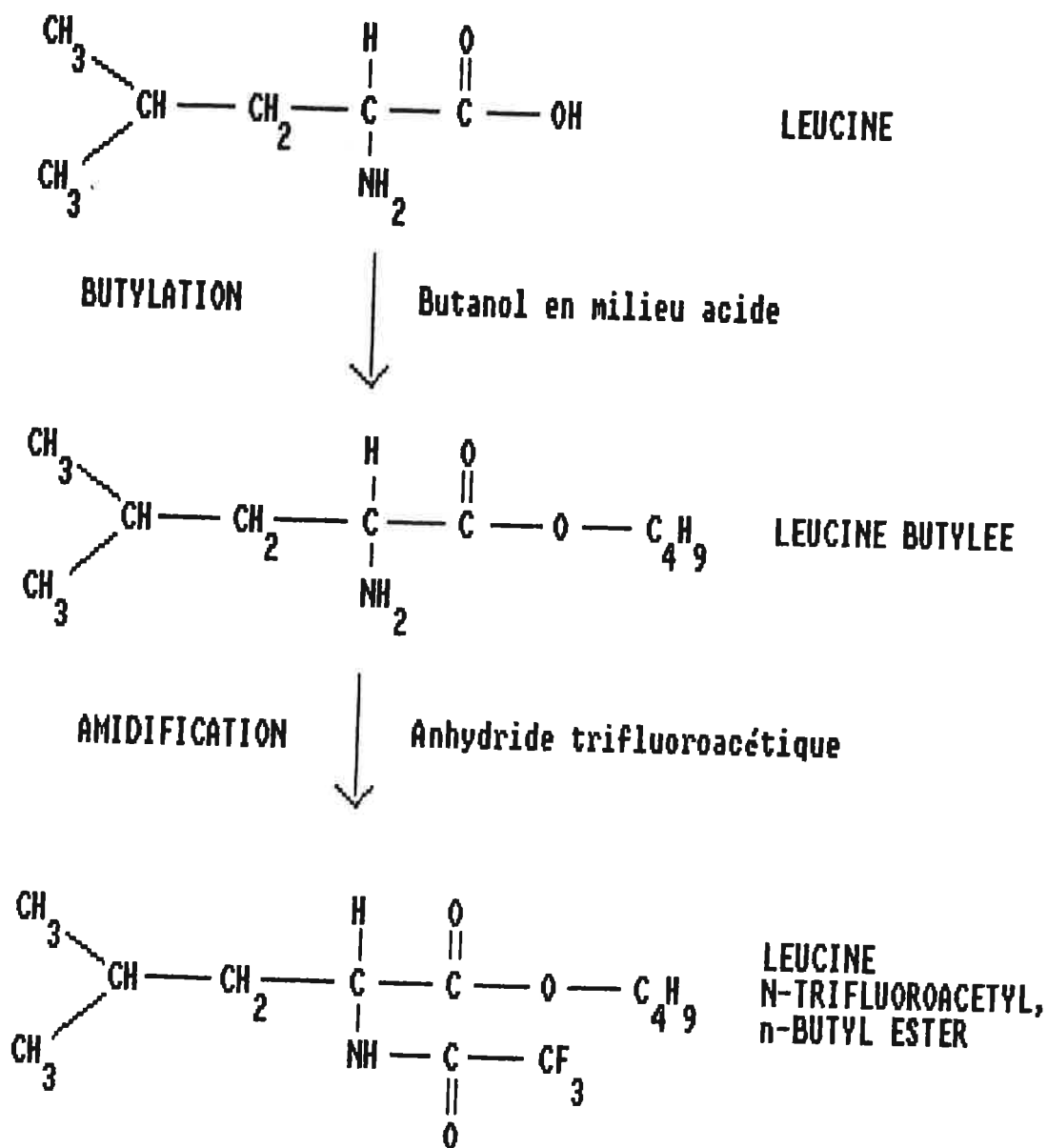
b) Réaction d'estérification par l'anhydride trifluoroacétique (TFA):

Le résidu sec est remis en solution par 200 μl de TFA dilué à 50 % dans du CH_2Cl_2 , puis vortexé, soniqué et incubé 15 minutes à 70°C dans un bain marie.

Après évaporation, la leucine ainsi dérivée est remise en suspension avec 50 μl d'acétate d'éthyle avant d'être injectée dans la colonne du chromatographe.

Figure 4

REACTION DE DERIVATION DE LA LEUCINE



5.4.3. - CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET SPECTROMÉTRIE DE MASSE
(C.G.S.M.)

5.4.3.1. Théorie (Fig. 5)

L'appareil de C.G.S.M. comprend en série un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse, ces appareils étant pilotés et les résultats calculés par ordinateur.

L'échantillon contenant la leucine dérivée est injecté dans la colonne du chromatographe où la température la fait passer en phase gazeuse. Elle est propulsée le long de la colonne par un gaz vecteur (hélium) et se présente à la sortie de l'appareil à un temps de rétention propre dépendant de la volatilité du composé. A ce stade, si on introduit dans l'échantillon initial un étalon interne de concentration, par exemple la d10 leucine pour la leucine, on peut calculer la concentration de leucine par rapport à celle, connue, de l'étalon.

Les "pics" d'acides aminés sont alors traités par le spectromètre de masse. Ils passent dans une chambre d'ionisation où les molécules sont "bombardées" par un faisceau d'électrons, ce qui provoque une fragmentation des molécules initiales en plusieurs ions chargés positivement. L'ensemble des cations est ensuite accéléré vers l'autre extrémité du spectromètre au travers d'un filtre quadripolaire. Au cours de ce trajet, les ions sont déviés de leur trajectoire suivant le champ quadripolaire. L'amplitude de cette déviation dépend avant tout de la masse des fragments, ce qui fait de cette partie du spectromètre un véritable "filtre" de masse. A la sortie, un analyseur mesure l'abondance relative des différents ions.

En injectant dans le C.G.S.M. des échantillons contenant chacun un seul acide aminé dérivé, on peut déterminer 2 données importantes :

- 1) le temps de rétention spécifique de cet acide aminé, ce qui permet de n'étudier ensuite les données du spectromètre de masse qu'à ce moment précis et ainsi simultanément plusieurs acides aminés dans un même échantillon, en lisant l'empreinte laissée dans le filtre de masse à différents temps de rétention,
- 2) la nature et l'abondance relative des fragments à la sortie du spectromètre de masse, "empreinte" spécifique de l'acide aminé dérivé, parfaitement reproductible si le mode de dérivation choisi est convenable ; ceci permet en outre d'étudier simultanément plusieurs formes isotopiques d'une molécule, marquée sur le carbone et sur l'azote, par exemple.

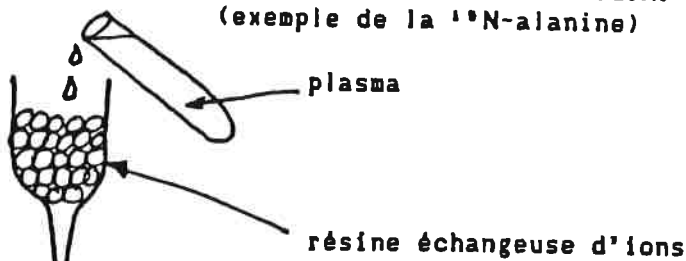
Le chromatographe en phase gazeuse est incapable de séparer les différentes formes isotopiques d'une même molécule, qui ont le même temps de rétention. Par contre, le spectromètre de masse sépare des fragments ne différant que par un neutron et donc permet de calculer un rapport entre des fragments isotopiques dont le poids moléculaire ne diffère que d'une unité.

La T.F.A.B. 13C-leucine donne un fragment de poids moléculaire 228, dont on peut mesurer l'abondance relative à celle d'un fragment 227 issu de la T.F.A.B. 12C-leucine. (Feuille des spectres)(Fig. 6)

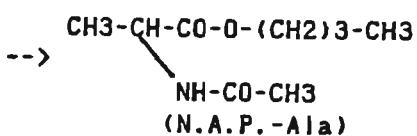
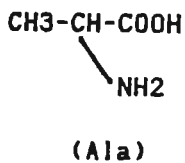
SCHÉMA DE L'ANALYSE EN C.G.S.M.
(exemple de la ^{15}N -alanine)

Figure 5

Extraction

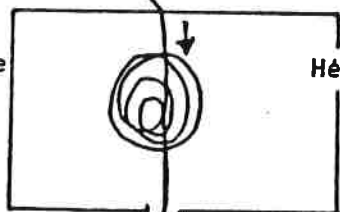


Dérivation

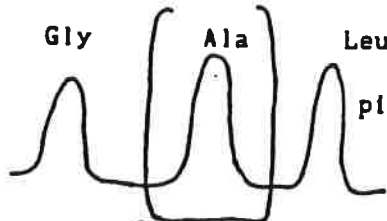


plasma
(dont NAP-Alanine)

Chromatographie
en phase gazeuse



Hélium

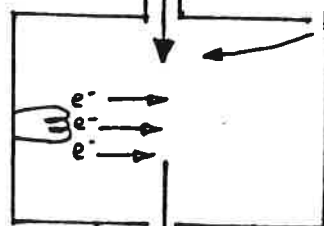


Séparation des
pics des différents
acides aminés

Couplage
C.G./S.M.

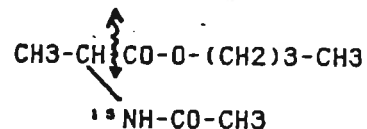
NAP-Ala

Fragmentation
par ionisation

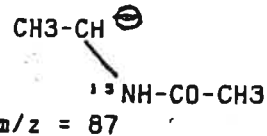


Chambre
d'ionisation

Fracture



^{15}N -Ala



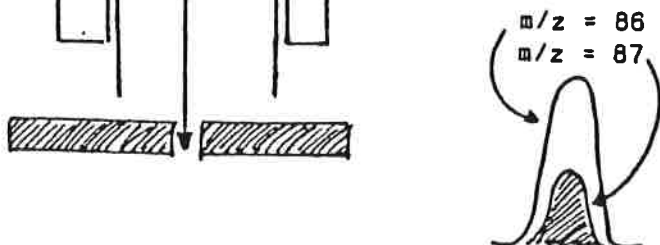
SPECTROMÈTRE
DE MASSE

Accélération

Déviation

Champ
magnétique

Détection

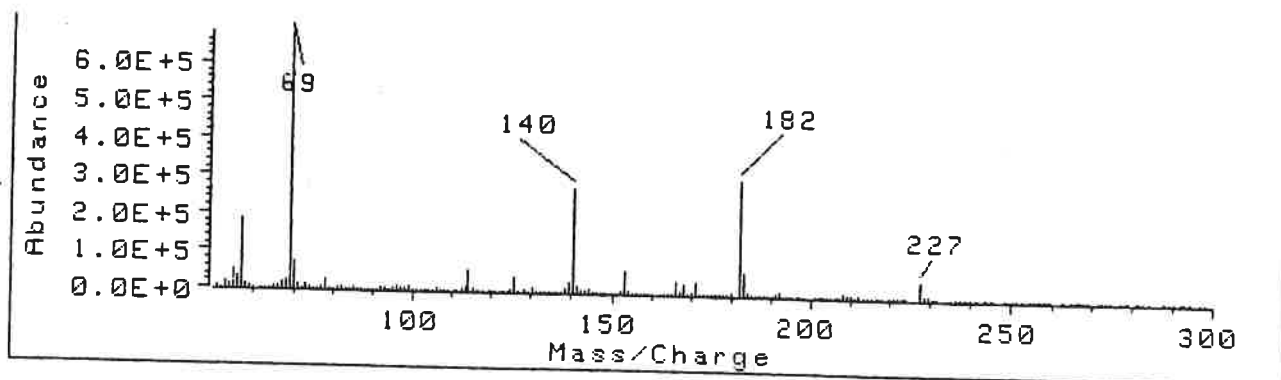


Intégration des
surfaces de pics
87/86 = ^{15}N -Ala/ ^{14}N -Ala

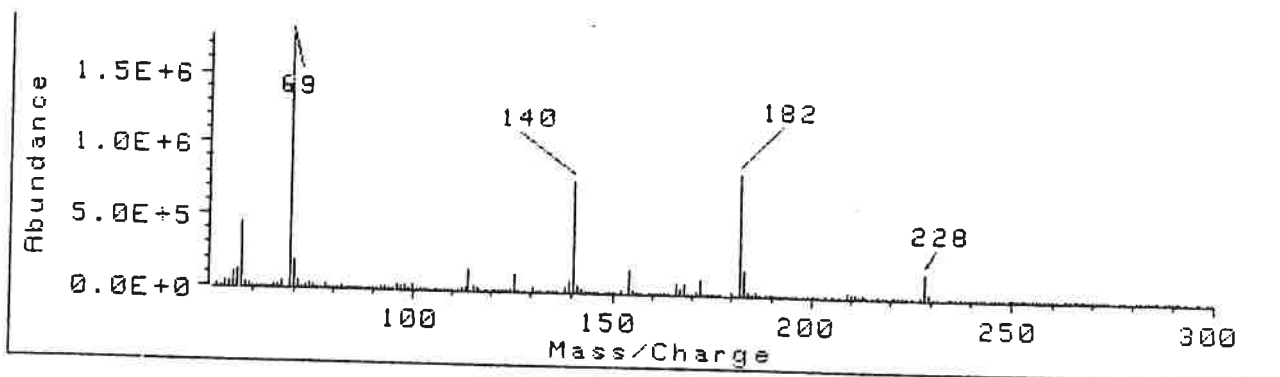
Figure 6

LEUCINE

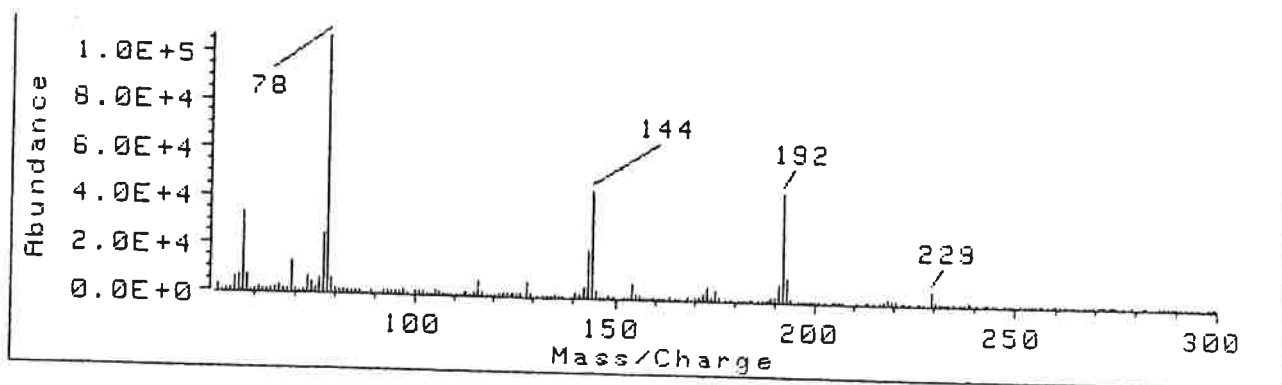
SPECTRES DE MASSE (impact électronique à 70 eV)



1) LEUCINE C12



2) LEUCINE C13



3) D10 LEUCINE

5.4.3.2. Matériel et méthode

Ensemble de couplage CGSM HEWLETT-PACKARD comprenant :

- chromatographe HP 5890
- MSD 5970
- passeur automatique ALS 7673 A
- station informatique HP 9000
- logiciel macro version 3.2

Acquisition des données en mode SIM (Single Ion Monitoring) :

Pour augmenter la sensibilité de détection, l'acquisition se fait seulement sur quelques ions spécifiques à chaque molécule (SIM) et non sur leur spectre complet. Après enregistrement préalable des spectres de masse des molécules et étude de leur fragmentométrie, les ions spécifiques à suivre sont les suivants : (Fig.7)

- | | |
|--------------------------------|----------------|
| - leucine C12 | ion 227 |
| - leucine C13 | ion 228 |
| - leucine totale (C12 + C13) | ion commun 182 |
| - D10 leucine (étalon interne) | ion 192 |

Conditions opératoires

- | | |
|---------------------|---|
| Chromatographie : | gaz vecteur : hélium 0,5 bar |
| | colonne capillaire HP Ultra 2 (12 m x 0,22 mm x 1,2 μ) |
| | température injecteur 280°C |
| | four 110°C isotherme |
| | interface 290°C |
| Spectro de masse : | impact électronique 70 eV |
| | SIM sur 227, 228, 182, 192 |
| Quantité injectée : | 3 μ l |

5.4.4. MESURE DE LA CONCENTRATION DE LEUCINE 12C DANS LES ÉCHANTILLONS

On injecte dans le C.G.S.M. des solutions étalons contenant des concentrations croissantes connues (75 μ M, 125 μ M, 175 μ M) de leucine se situant autour de la valeur attendue de leucine plasmatique (150 μ M) et un étalon interne (d10 leucine, 20 μ M pour doser la leucine) et on établit une courbe d'étalonnage où le rapport des surfaces des pics caractéristiques de l'acide aminé et de l'étalon interne (leucine/d10 leucine) est une fonction de la concentration de l'acide aminé. On peut alors en déduire la concentration correspondant au pic issu de l'échantillon étudié (Fig.8).

Figure 7

LEUCINE

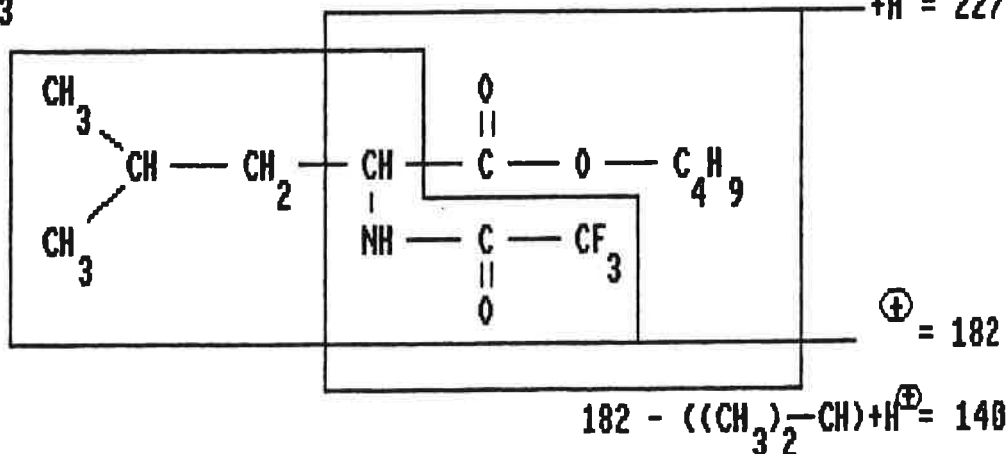
ETUDE DE FRAGMENTOMETRIE DE MASSE.

(DERIVES N-TRIFLUOROACETYL n-BUTYL ESTER)

Leucine C¹²
C₁₂ H₂₀ NO₃ F₃

PM = 283

ions spécifiques

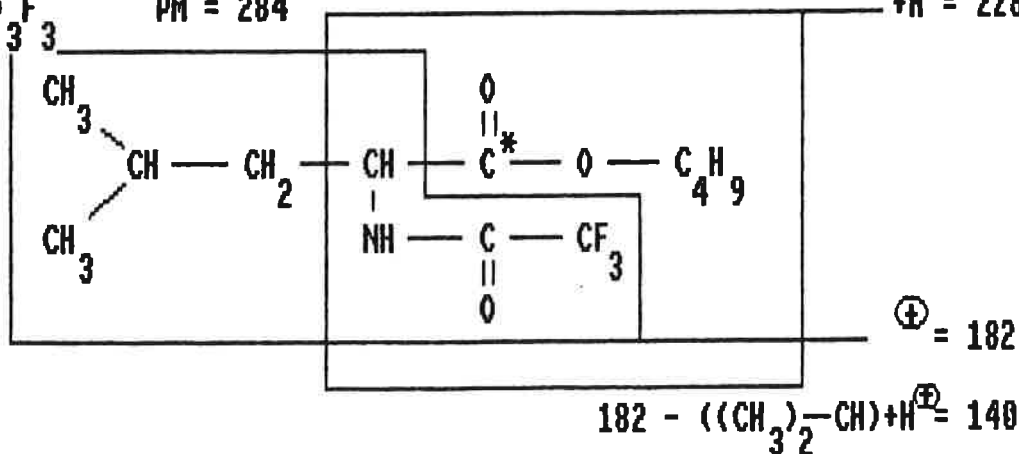


Leucine C¹³

C₁₁ C*H₂₀ NO₃ F₃

PM = 284

$+H^{\oplus} = 228$

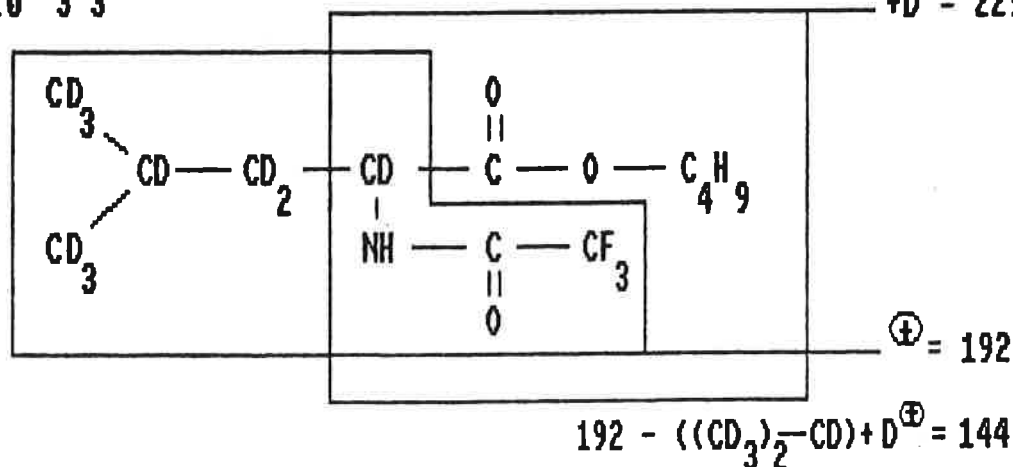


D10 Leucine

C₁₂ H₁₀ D₁₀ NO₃ F₃

PM = 293

$+D^{\oplus} = 229$



LEUCINE

Figure 8

PROFIL DE L'ACQUISITION CG/SM EN MODE SIM ET INTEGRATION

Data file: DATA:LEU_A03A.D
File type: GC / MS DATA FILE

Sample Name: ECH 3,XA.BI.BOLUS 1 AV.REG.

Misc Info:

Operator :

Date : 4 Dec 91 4:27 pm

Instrument: MS_5970

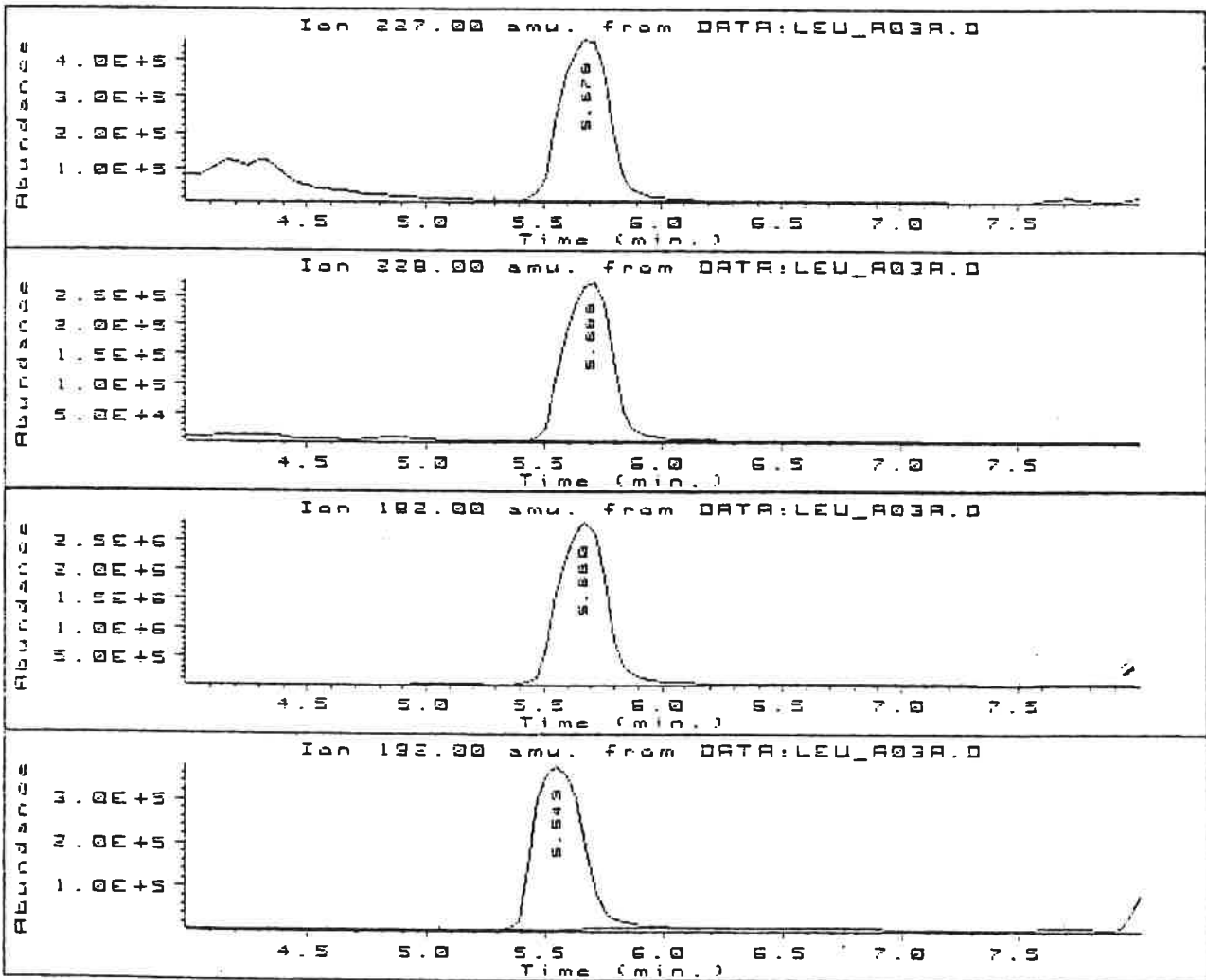
Inlet : GC

Sequence index : 1

Als bottle num : 3

Replicate num : 1

***** INTEGRATION LEUCINE *****



| TEMPS C12 | TEMPS C13 | TEMPS LEUTOT | TEMPS EI |
|-----------|-----------|--------------|----------|
| 5.677 | 5.677 | 5.677 | 5.553 |
| AIRE 227 | AIRE 228 | AIRE 182 | AIRE 192 |
| 66099668 | 38685349 | 405.6e6 | 53369802 |

| | |
|-----------------------|---------------------|
| RAPPORT LEUC13/EI | : 228/192 = 0.7249 |
| RAPPORT LEUC13/LEUC12 | : 228/227 = 0.5853 |
| RAPPORT LEUTOT/EI | : 182/192 = 7.600 |
| RAPPORT LEUC12/EI | : 227/192 = 1.239 |
| RAPPORT LEUC13/LEUTOT | : 228/182 = 0.09537 |

5.4.5. CALCUL DE L'ENRICHISSEMENT PLASMATIQUE

Lorsqu'on utilise un traceur radioactif, on n'a pas à se préoccuper de la présence de ce traceur avant injection, puisqu'il est supposé absent de l'organisme (en fait présent, mais en quantité négligeable). Lorsque le traceur est un isotope stable, nous avons vu que sa présence préalable n'est pas négligeable (on considère qu'environ 1 % des atomes de carbone est sous forme ^{13}C dans les substances organiques). On est donc amené à mesurer une différence entre le rapport molaire ^{13}C -leucine/ ^{12}C -leucine (RJ leucine) existant dans l'organisme avant injection du traceur (ligne de base = RJO) et celui existant après le bolus (RJp). L'utilisation de la C.G.S.M. permet la mesure de RJ de façon indirecte : on s'intéresse en fait au rapport des fragments de poids moléculaire 228/227. Cet intermédiaire nécessite un étalonnage préalable : on injecte dans la C.G.S.M. des échantillons de leucine dont le rapport $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ est fixé de façon croissante ; on obtient une série de rapports des surfaces des pics 228 sur 227 et on construit une droite de régression où le rapport de surfaces 228/227 est une fonction de RJ. La pente k de cette droite permettra de déterminer le rapport ^{13}C -leucine/ ^{12}C -leucine des échantillons ensuite analysés en C.G.S.M. :

$$RJ = \frac{\text{surface (228)}}{\text{surface (227)}}$$

$$\text{on a ainsi : } E = \frac{k}{(RJp - RJo) + 1} \times 100$$

(le facteur 100 transformant un rapport en pourcentage d'excès molaire)

6. BILAN BIOLOGIQUE

Un bilan biologique a été réalisé :

- au repos,
- à la fin de l'exercice physique prolongé de 1 h 30 sur ergocycle,
- à la fin de la récupération, soit 2 heures après le bolus de leucine ^{13}C

6.1. PARAMETRES MÉTABOLIQUES ET HORMONAL

Il comprend les dosages sanguins suivants :

glucose
lactate
B OH
AGL
NH₃
acide urique
urée
pH
pCO₂
pO₂
insuline

6.2. - TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS SANGUINS

Pour le pH, pCO₂, pO₂ sanguin : le sang est immédiatement dosé à l'aide d'un analyseur de gaz du sang (ABL 330 Radiometer).

Pour le glucose, lactate, B OH : des aliquots de 0.5 ml de sang total sont prélevés et répartis dans des tubes de recueil sur 1 ml d'acide perchlorique (0.6 N), en vue de précipiter les protéines du sang. Après agitation, les tubes sont congelés à - 20°C, pour les dosages ultérieurs de glucose, lactate et βOH.

Pour l'insuline et les AGL : le sang total hépariné est centrifugé à 3 000 tours/min. pendant 10 minutes à 4°C. Le plasma recueilli est séparé en aliquots de 0.5 ml puis congelé à - 80°C, afin de doser l'insuline et les AGL ultérieurement.

Pour acide urique, urée, NH₃ : le sang total hépariné est centrifugé à 3 000 tours/min à 4°C. Le plasma recueilli est analysé immédiatement.

6.3. DOSAGES DES MÉTABOLITES

Les métabolites sont dosés par des techniques spécifiques enzymatiques : le glucose (Slein, 1963), le lactate (Hohorst, 1963), le BOH (Williamson et coll., 1962), le NH₃, l'acide urique et l'urée (Kit Kodak Ektachem). Le dosage des AGL est réalisé à l'aide d'un kit enzymatique (NEFA, test Wako, Biolyon).

6.4. - DOSAGE DES HORMONES

Le dosage de l'insuline (Hales et Randle, 1963) est fait avec le kit INSEK-J fabriqué par le CEA (sensibilité évaluée à 2.5 U.I. ml⁻¹)

7. ETUDE STATISTIQUE

Les résultats ont été traités, soit par un plan d'analyse de variance, soit par un test non paramétrique (test de rang) de Wilcosar.

C - RESULTATS

1.TAUX DE RENOUVELLEMENT DE LEUCINE

Le nombre restreint de sujet amène à exploiter les résultats individuellement.

La régression polynomiale des points expérimentaux fait apparaître un modèle à 2 exponentielles dont le coefficient de corrélation est supérieur à R = 0.90 pour l'ensemble des sujets.

La méthode de calcul du taux de renouvellement nécessite d'établir la droite résultante des deux courbes exponentielles exprimées en coordonnées semi logarithmiques.

L'intersection de ces droites avec l'axe des Y représente l'activité spécifique au temps 0. La pente de la droite est proportionnelle au taux de renouvellement, elle représente le coefficient K. Dans notre étude, le taux de renouvellement est exprimé en μmol de leucine par l de plasma et par heure.

Les droites représentant les cinétiques rapides et lentes du taux de renouvellement sont représentées par des figures, pour chaque sujet (Fig. 9 à 15).

Il n'est pas possible d'exploiter les résultats du sujet A.R. à cause d'une erreur dans le protocole de prélèvement à l'issue de l'injection de ^{13}C leucine.

Les données numériques pour chaque sujet sont représentées dans les tableaux (de 1 à 11), on constate pour le sujet A.R. un taux très élevé d'activité ^{13}C au temps 2 minutes. Le prélèvement, effectué dans le même site que le lieu d'injection, récupère aux temps courts l'activité leucine persistant localement dans le territoire veineux de l'avant-bras.

Le calcul des taux de renouvellement est présenté dans le tableau (7 à 11) et sur chaque figure.

On constate pour 4 sujets (BR, GG, JR, XB) que les pentes rapides de diminution de l'activité spécifique ^{13}C -leucine sont identiques.

leucine totale

Calcul des TR (Tableau 12)

La valeur moyenne du taux de renouvellement rapide est de $136.2 \pm 20.0 \mu\text{mol l}^{-1} \text{h}^{-1}$ avant le régime et de $126.2 \pm 15.0 \mu\text{mol l}^{-1} \text{h}^{-1}$ après le régime. L'analyse statistique par un test de rang fait apparaître qu'il n'y a pas de différence significative entre ces deux valeurs.

La valeur moyenne du taux de renouvellement lent est de $11.4 \pm 6.0 \mu\text{mol l}^{-1} \text{h}^{-1}$ avant le régime et de $25.7 \pm 10.2 \mu\text{mol l}^{-1} \text{h}^{-1}$ après le régime. L'analyse par un test de rang fait apparaître que le taux de renouvellement lent de la leucine est significativement plus élevé à l'issue du régime protéique.

4 sujets sur 5 présentent une élévation significative de la valeur de ce T.R. lent.

| | TR rapide | | TR lent | |
|---------------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| | AVANT | APRES | AVANT | APRES |
| B.R. | | 180 | 8.2 | 1.4 |
| G.G. | | 114 | 32 | 54 |
| J.R. | | 105 | 1.41 | 7.3 |
| X.B. | 100 | 98 | 8.1 | 29.7 |
| F.L. | 182 | 123 | 7.2 | 36 |
| Moyenne ± SEM | 136.2 20.0 | 126.2 15.0 | 11.4 5.0 | 25.7 10.5 |

TABEAU 12

Présentation des moyennes ± SEM des taux de renouvellement (TR) de leucine, mesurés avant et après la période de régime expérimental. Les deux composantes lentes et rapides sont exprimées en $\mu\text{mol.l}^{-1}\text{.h}^{-1}$.

2. TEST ANAÉROBIE LACTIQUE (CYBEX) (Tableau 13)

Les résultats montrent une diminution significative de la puissance anaérobie lactique à l'issue d'un exercice de 90 min. sur ergocycle à 60 % du VO₂ max ($p < 0.001$). La complémentation protéique de 0.6 g/kg/j ne modifie pas le temps de maintien de la force maximale.

3. PARAMETRES DU MÉTABOLISME GLUCIDIQUE ET LIPIDIQUE (Tableau 14 et 15)

3.1. LE GLUCOSE SANGUIN

La glycémie n'est pas modifiée ni par un exercice de 90 min sur ergocycle à 60 % du VO₂ max. ni par la complémentation protéique.

3.2. LE LACTATE

La lactatémie est revenue à sa concentration basale à l'issue des 90 min. d'exercice à 60 % du VO₂ et n'est pas modifiée par la complémentation protéique dans les situations de repos et juste à l'arrêt de l'exercice. Par contre, sa valeur est significativement plus faible ($p < 0.01$) au bout de 2 heures de récupération lorsque les sujets ont absorbé un complément protéique de 0.6 j/kg/j pendant 3 semaines.

3.3. LES ACIDES GRAS LIBRES (A.G.L.)

Les concentrations d'A.G.L. sont significativement augmentées à l'issue de l'exercice et de façon identique quelle que soit la nutrition. Ces valeurs restent élevées lors de la récupération.

3.4. L'INSULINE

L'insulinémie est significativement diminuée à la fin de l'exercice physique et de façon identique pour les deux régimes ($p < 0.001$). Elle reste significativement basse lors de la récupération.

L'injection de leucine ¹³C en bolus (120 mg de L⁻¹.¹³C leucine) n'a pas d'action sur la sécrétion d'insuline.

4. PARAMETRES DU MÉTABOLISME AZOTÉ (Tableau 16)

4.1. L'AMMONIAQUE SÉRIQUE : NH₃

L'ammoniaque sérique est augmentée de façon non significative, respectivement de 22 % et de 23 % par la complémentation protéique au repos et lors de la récupération par rapport à leur propre témoin (46.7 ± 4.8 vs $56.8 \pm 4.3 \mu\text{mol.l}^{-1}$; 46.5 ± 8.7 vs $57.2 \pm 6.8 \mu\text{mol.l}^{-1}$).

À l'issue de 90 min d'exercice sur ergocycle, les concentrations de NH₃ sont respectivement plus élevées que leur témoin repos.

CYBEX

| | <u>REPOS</u> | <u>APRES EXERCICE</u> |
|-----------------------------|--------------|-----------------------|
| <u>Sans complémentation</u> | 98.5 ± 9.1 | 49.8 ± 7.1 (a) |
| <u>Avec complémentation</u> | 86.2 ± 7.5 | 54.5 ± 6.8 (a) |

Tableau 13: Evolution du temps de maintien d'une force équivalente à - 50 % de la force maximale volontaire d'extension de la jambe (en secondes) au repos et après un exercice de 90 min sur ergocycle à 60 % du VO2 max sans ou avec une complémentation protéique de 0.6 g/kg/j pendant 3 semaines.

Les résultats sont les moyennes ± S.E.M. de 6 déterminations (a) - les valeurs sont significativement différentes de celles du repos ($p < 0.05$).

Pas d'effet de la complémentation.

METABOLITES SANGUINS

| SITUATIONS | REGIMES Complémentation | GLUCOSE (mM.L ⁻¹) | LACTATE (mM.L ⁻¹) | A G L (μM.L ⁻¹) |
|--------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| REPOS | SANS | 4.88 ± 0.02 | 1.10 ± 0.09 | 0.24 ± 0.07 |
| | AVEC | 4.94 ± 0.09 | 1.23 ± 0.09 | 0.21 ± 0.03 |
| FIN EXERCICE | SANS | 4.83 ± 0.23 | 1.20 ± 0.12 | 1.31 ± 0.21(a) |
| | AVEC | 4.85 ± 0.15 | 1.97 ± 0.24 | 1.12 ± 0.24(a) |
| RECUPERATION | SANS | 4.40 ± 0.16 | 1.98 ± 0.39 | 1.09 ± 0.15(a) |
| | AVEC | 4.58 ± 0.11 | 0.84 ± 0.04(b) | 0.86 ± 0.14(a) |

TABLEAU 14

Evolution des métabolites sanguins au repos, à l'issue d'un exercice physique de 90 min à 60 % du VO₂ max et lors de la récupération sans ou avec une complémentation protéique de 0.6 g/kg/j pendant 3 semaines. Les résultats sont les moyennes ± SEM de 6 déterminations.

(a) valeurs significativement différentes des valeurs de repos (effet exercice)

(b) valeurs significativement différentes de la valeur sans complémentation (effet nutrition)

INSULINE

| SITUATIONS REGIMES | REPOS | FIN EXERCICE | BOLUS 5 MIN | BOLUS 30 MIN | FIN |
|---------------------------------|--------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|
| Sans complémentation | 25.3 ± 10.4 | 10.2 ± 1.2(a) | 7.8 ± 0.6(a) | 6.8 ± 0.3(a) | 7.6 ± 0.3(a) |
| Avec complémentation | 20.4 ± 5.6 | 10.4 ± 0.8(a) | 7.9 ± 1.0(a) | 7.9 ± 0.4(a) | 8.0 ± 0.3(a) |

TABLEAU 15

Evolution de l'insulinémie en $\mu\text{UI}\cdot\text{ml}^{-1}$ au repos, après 90 min d'exercice sur ergocycle à 60 % du $\text{VO}_{2\text{max}}$ et 5, 30, 120 min suivant le bolus de leucine ^{13}C , sans ou avec une complémentation protéique de 0.6 g/kg/j pendant 3 semaines.

Les résultats sont les moyennes ± SEM de 6 déterminations.

- (a) valeurs significativement différentes de celles au repos
- pas d'effet de la complémentation

METABOLISME AZOTE

| SITUATIONS | REGIMES Complémentation | NH ₃ (μM.L ⁻¹) | UREE (mM.L ⁻¹) | ACIDE URIQUE (μM.L ⁻¹) |
|--------------|----------------------------|--|-------------------------------|---------------------------------------|
| REPOS | SANS | 46.7 ± 4.8 | 8.2 ± 0.9 | 346.8 ± 20.0 |
| | AVEC | 56.8 ± 4.3 | 8.6 ± 0.8 | 301.7 ± 20.3 |
| FIN EXERCICE | SANS | 87.8 ± 7.4(a) | 7.6 ± 0.6 | 358.7 ± 33.6 |
| | AVEC | 94.0 ± 6.6(a) | 8.5 ± 0.7 | 312.0 ± 15.7 |
| RECUPERATION | SANS | 46.5 ± 8.7 | 7.2 ± 0.5 | 356.3 ± 12.5 |
| | AVEC | 57.2 ± 6.8 | 8.3 ± 0.8 | 453.6 ± 8.7 |

TABEAU 16

Evolution des paramètres du métabolisme azoté au repos, à l'issue d'un exercice physique de 90 min à 60 % du VO₂ max et lors de la récupération sans ou avec une complémentation protéique de 0.6 g/kg/j pendant 3 semaines.

Les résultats sont les moyennes ± SEM de 6 déterminations.

- (a) montre que les résultats à la fin de l'exercice sont significativement différents de ceux au repos (p < 0.05)
- pas d'effet de la complémentation

GAZ DU SANG

| SITUATIONS | REGIMES Complémentation | pH (nM.L ⁻¹) | pCO ₂ (mm Hg K Pa) | pO ₂ (mm Hg K Pa) |
|--------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| REPOS | SANS | 7.23 ± 0.02 | 52.12 ± .3.95 | 39.78 ± 8.29 |
| | AVEC | 7.18 ± 0.02 | 50.64 ± 2.55 | 47.76 ± 8.51 |
| FIN EXERCICE | SANS | 7.24 ± 0.01 | 43.27 ± 2.45(a) | 63.80 ± 8.67(a) |
| | AVEC | 7.21 ± 0.01 | 43.46 ± 1.89(a) | 56.56 ± 5.51(a) |
| RECUPERATION | SANS | 7.29 ± 0.02 | 46.20 ± 1.58 | 44.70 ± 9.68 |
| | AVEC | 7.23 ± 0.01 | 44.86 ± 1.84 | 42.12 ± 4.01 |

TABLEAU 17

Evolution du pH, pCO₂ et pO₂ du sang veineux au repos, à l'issue d'un exercice physique de 90 min à 60 % du VO₂ max et lors de la récupération sans ou avec une complémentation protéique de 0.6 g/kg/j pendant 3 semaines.

Les résultats sont les moyennes ± SEM de 6 déterminations

- (a) valeurs significativement différentes de celles du repos (p < 0.05)
- pas d'effet de la complémentation

PARAMETRES RESPIRATOIRES

| SITUATIONS | REGIMES Complémentation | QR | $\dot{V}CO_2$ L.min ⁻¹ .kg ⁻¹ | $\dot{V}O_2$ L.min ⁻¹ .kg ⁻¹ |
|------------|----------------------------|-------------|--|---|
| REPOS | SANS | 0.86 ± 0.03 | 0.35 ± 0.03 | 0.40 ± 0.03 |
| | AVEC | 0.85 ± 0.04 | 0.43 ± 0.04 | 0.51 ± 0.03 |
| 30 MIN | SANS | 0.88 ± 0.03 | 2.03 ± 0.14(a) | 2.31 ± 0.17(a) |
| | AVEC | 0.89 ± 0.01 | 1.91 ± 0.13(a) | 2.14 ± 0.15(a) |
| 60 MIN | SANS | 0.90 ± 0.01 | 2.10 ± 0.14(a) | 2.33 ± 0.14 (a) |
| | AVEC | 0.88 ± 0.01 | 2.05 ± 0.11(a) | 2.33 ± 0.14(a) |
| 90 MIN | SANS | 0.89 ± 0.02 | 2.21 ± 0.15(a) | 2.46 ± 0.15(a) |
| | AVEC | 0.88 ± 0.01 | 2.06 ± 0.13(a) | 2.35 ± 0.16(a) |

TABLEAU 18

Evolution des paramètres respiratoires (QR, $\dot{V}CO_2$, $\dot{V}O_2$) au repos et toutes les 30 min pendant un exercice de 90 min sur ergocycle à 60 % du VQ_2 max sans ou avec une complémentation protéique de 0.6 g/kg/j pendant 3 semaines.

Les résultats sont les moyennes ± SEM de 6 déterminations

- (a) valeurs significativement différentes de celles au repos.

- pas d'effet de la complémentation

4.2. L'URÉE ET L'ACIDE URIQUE

Ni l'exercice, ni le régime ne modifient les concentrations plasmatiques d'urée et d'acide urique.

5. PARAMETRES DES GAZ DU SANG VEINEUX (Tableau 17)

5.1. PH

La complémentation protéique et l'exercice ne modifient pas le pH sanguin

5.2. PCO₂ ET PO₂

La pCO₂ est significativement diminuée à la fin de l'exercice alors que la pO₂ est augmentée. La complémentation ne modifie pas ces paramètres.

6. PARAMETRES RESPIRATOIRES (Tableau 18)

6.1. QUOTIENT RESPIRATOIRE : QR

Le QR n'est pas modifié : ni par un exercice de 90 min sur ergocycle à 60 % du VO₂ max ni par la complémentation protéique.

6.2. VOLUMES DE CO₂ ET VOLUMES D'O₂ EXPIRÉS

Les résultats montrent que les VCO₂ et les VO₂ expirés sont significativement augmentés lors de l'exercice physique. La complémentation protéique ne modifie par l'évolution de ces paramètres.

D - DISCUSSION

1. TAUX DE RENOUVELLEMENT DE LEUCINE

Ces résultats amènent à discuter le choix de la méthode. La totalité des résultats publiés chez l'homme concernant le TR de la leucine mesurée avec de la leucine ¹³C utilise la méthode de perfusion continue (Lamont et coll., 1990 ; Carraro et coll., 1990, Devlin et coll., 1990 ; Darmaun et coll., 1989 ; Cobelli et coll., 1991 ; Knapik et coll., 1991). Les limites et les avantages respectifs des méthodes d'études utilisant soit les méthodes de bolus, soit les méthodes de perfusion continue ont été discutées par Chevallier (1972). La méthode du bolus permet d'analyser le renouvellement de molécules admettant un ou deux compartiments alors que la méthode d'administration continue permet d'analyser une somme d'exponentielles éventuellement décomposables en de multiples compartiments. Concernant l'étude de la leucine, l'étude de Cobelli et coll. (1991), utilisant un double isotope ¹³C leucine et ¹³C ketoisocaproate, a permis de

dénombrer les compartiments d'échanges et de métabolisation de la leucine ^{13}C . Le modèle le plus complet fait apparaître 10 compartiments qui peuvent se subdiviser en 2 groupes : un compartiment à métabolisme rapide et un compartiment à métabolisme lent. La méthode de bolus fait ressortir l'existence de ces 2 compartiments et ne permet pas de mettre en évidence les sous-unités d'échange. Cette méthode est donc moins fidèle que la méthode à l'équilibre. Dans notre étude, elle avait pour but principal de répondre à une question qui consistait à définir si l'administration d'un régime riche en leucine pouvait modifier le métabolisme de la leucine pendant la phase de récupération. Les différences statistiques observées sur le compartiment lent d'échange et de métabolisme indique que cette méthode révèle une adaptation métabolique sous l'effet du régime riche en protéines. L'intérêt de la méthode du bolus réside dans sa facilité d'emploi. Elle nécessite l'injection unique à l'aide d'un matériel à usage unique d'une dose de ^{13}C leucine; le sujet est soumis à des prélèvements sanguins seulement pendant les 2 heures qui suivent l'injection. La méthode de perfusion continue nécessite de perfuser à l'aide d'une pompe, une solution de leucine pendant 4 heures. Cette méthode présente, chez le volontaire sain, plusieurs inconvénients d'ordre éthique qui sont le risque infectieux résultant de l'utilisation d'un matériel de perfusion (pompe et tubuline de la pompe) à usages répétés et le risque de traumatiser les veines. La perfusion et le recueil dans un territoire veineux pendant 4 heures fait courir un risque de thrombose ou de lésions veineuses. Enfin, l'acceptabilité par les sujets d'une immobilisation de 2 heures après l'exercice est supérieure à l'acceptabilité d'une immobilisation de 4 heures. La validité des résultats obtenus peut être évaluée en comparant la cinétique rapide post-exercice musculaire et les données obtenues avec la méthode de perfusion continue. La TR mesurée pendant la phase de récupération d'un exercice musculaire à 75 % du VO_2 max jusqu'à épuisement par Devlin et coll. (1990) est de $115 \mu\text{mol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. Les valeurs mesurées lors de la phase rapide de diminution de l'activité ^{13}C leucine dans notre étude sont de $136.2 \mu\text{mol.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ avant régime et de $126.2 \mu\text{mol.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ après régime et sont proches de celles observées par Devlin et coll. (1990).

La question se pose de savoir quelle est la destinée de la ^{13}C leucine qui disparaît. Les données de Devlin et coll. (1990) ont montré que l'augmentation du flux de leucine pendant la phase de récupération comparée à la phase de repos est liée à une augmentation du métabolisme non oxydatif de la leucine et représente une augmentation des synthèses protéiques. L'augmentation des synthèses protéiques pendant la phase de récupération a été confirmée par les données de Carraro et coll (1990a et 1990b). Cet accroissement des synthèses en période de récupération s'oppose à la phase d'augmentation de l'oxydation qui survient pendant l'exercice musculaire (Carraro et coll., 1990b). Dans notre étude, la méthode utilisée ne permet pas de vérifier l'orientation des flux, il est donc difficile d'attribuer une origine à l'augmentation du TR lent qui survient après le régime protéique. Carraro et coll. (1990) n'ont pas trouvé de modification des flux de leucine pendant l'exercice musculaire et en période de récupération à l'issue d'un régime riche en protéines. Cette différence avec l'augmentation observée dans notre étude, peut d'une part s'expliquer par un effet spécifique des acides aminés branchés ou par une limitation de la méthode en perfusion continue. Cette méthode qui sature l'organisme en leucine peut masquer les phénomènes lents de synthèse qui surviennent dans la période tardive de récupération.

Au total, ces éléments permettent de formuler l'hypothèse que l'accélération de la disparition de la leucine ^{13}C qui survient dans la phase tardive de la récupération dépend du métabolisme lent de la leucine. Ce compartiment lent d'échange reflète les synthèses protéiques (Rosenblatt et coll., 1988). Il est donc possible que l'effet leucine se traduise plus par une action au niveau de la stimulation de la synthèse qu'au niveau de l'oxydation. L'hypothèse initiale d'une augmentation du flux oxydatif sous l'effet d'une induction de l'enzyme clé de l'oxydation (la BCOAD) ne se trouve pas confirmée.

L'effet stimulant de la leucine sur la synthèse protéique en phase de récupération correspond aux données obtenues en situation de repos. La perfusion de leucine augmente les synthèses protéiques musculaires (Louard et coll., 1990). Cet effet semble résulter d'une modification du rapport $\frac{\text{NADH}}{\text{NAD}}$ (Mitch et Clark, 1984)

Etant donné les relations qui existent entre le statut redox et l'orientation des voies métaboliques, on peut faire l'hypothèse que l'administration chronique de leucine modifie la répartition entre le débit de la glycolyse aérobie et anaérobie et améliore la production d'ATP par voie anaérobie. Cette hypothèse est renforcée par les résultats obtenus dans l'étude précédente utilisant l'analyse par RMN du métabolisme musculaire. Il existe une relation étroite entre le flux glucidique et les synthèses protéiques post-exercice musculaire (Lemon et Mullin, 1980). Le mécanisme hypothétique d'action de la leucine passerait par une amélioration des flux glycolytiques en phase de récupération, résultant peut être d'un effet sur la capacité tampon du muscle, qui serait secondairement responsable d'une augmentation des synthèses protéiques.

2. PERFORMANCE ET MÉTABOLISME

La complémentation protéique de 0.6 g/kg/j d'AAB ne modifie pas le temps de maintien de 50 % de la force maximale volontaire (FMV) d'extension de la jambe en isométrie : ni au repos, ni après l'exercice de 90 min sur ergocycle.

Le temps de maintien de 50 % de la force maximale volontaire (FMV) d'extension de la jambe en isométrie n'est pas modifiée par la complémentation protéique de 0.6 g de protéines/kg corporel/jour d'AAB. Ces résultats sont différents de ceux de Warlberg et coll. (1988), qui ont trouvé une importante diminution de l'endurance du quadriceps chez des sujets recevant une alimentation hyperprotéique (1.6 g/kg/j) comparée à celle observée chez des sujets recevant une alimentation normoprotéique (0.8 g/kg/j). Cependant, ces sujets prenaient certes un régime isocalorique enrichi en protéines mais, il était également appauvri en hydrates de carbone (50 % de la ration) comparée aux sujets recevant un régime normoprotéique et riche en glucides (70 % de la ration). Ces régimes hyperprotéiques et hypoglucidiques affectent le contenu en glycogène musculaire en induisant une diminution de leurs réserves (Satabin et coll., 1989 ; Tiedgen et Seitz, 1980), ainsi que le pouvoir tampon de l'organisme. En effet, Greenhaff et coll. (1987) ont montré qu'une ration pauvre en hydrates de carbone (7 % de la ration) et riche en protéines (29 % de la ration) entraînait une diminution de la concentration

plasmatique de bicarbonate. Ainsi, la réduction du temps de maintien de 50 % de la FMV d'extension de la jambe en isométrie observé par Warlberg et coll. (1988) peut s'expliquer par une diminution des réserves glycogéniques musculaires et par une réduction de pouvoir tampon de l'organisme qui seraient responsables de l'arrêt de l'exercice. Quant à nos sportifs, ils ont reçu une complémentation de 0.6 g/kg/k d'AAB sans modification de l'apport glucidique. Ainsi, bien que nous n'avons pas mesuré l'état des stocks glycogéniques de nos sujets, nous pouvons extrapoler des réserves glycogéniques identiques chez les sujets ayant reçu une complémentation de 0.6 g/kg/j d'AAB et celles des sujets normoprotéiques ainsi qu'un pouvoir tampon de l'organisme non modifié ; ce qui explique un temps de maintien semblable.

Seul l'exercice physique de 90 min sur ergocycle à 60 % du VO_2 max diminue le temps de maintien de 50 % de la FMV. Cet effondrement du temps d'endurance après l'exercice peut s'expliquer par une chute des réserves glycogéniques des groupes musculaires travaillant. En effet, il est désormais admis :

- 1) qu'un exercice physique endurant de longue durée induit une diminution progressive des réserves glycogéniques des muscles actifs (Costill et coll., 1971),
- 2) que la réalisation et le maintien d'un exercice local soutenu sont corrélés avec la concentration en glycogène musculaire initiale et son niveau d'utilisation (Jacobs, 1981).

A la fin de l'exercice de 90 min à 60 % du VO_2 max, la lactatémie est semblable à celle du repos. Ceci peut s'expliquer d'une part, par des réserves glycogéniques très faibles à la fin de l'exercice (Saltin et Karlson, 1971)(il y a donc peu de production de lactate par la voie de la glycogénolyse à ce stade) ; et d'autre part, par une augmentation de l'utilisation du lactate à la fois par le foie et les muscles vers la voie de l'oxydation et par le foie vers la voie de la néoglycogénèse (Wahren et coll., 1971). Le régime hyperprotidique n'affecte pas ces différents processus puisque la lactatémie n'est pas modifiée. Par contre, à l'issue de la récupération, les concentrations de lactate sont significativement diminuées par le régime complétement en protéines, peut être par une activation de la voie de la néoglycogénèse par ces régimes (Tiedgen et Seitz, 1980).

Les concentrations plasmatiques d'AGL sont augmentées à l'issue de l'exercice et restent élevées après 2 heures de récupération alors que l'insulinémie est diminuée. L'insuline est une hormone anabolique qui stimule la voie de la lipogénèse et par conséquent diminue les taux circulants d'AGL en les orientant préférentiellement vers la voie de la réestérification dans le tissu adipeux (Steinberg, 1963). La baisse de l'insulinémie, observée après l'exercice et lors de la récupération, entraîne ainsi la libération des AGL à partir des triglycérides endogènes (TG) stockés dans le tissu adipeux ; ces AGL pouvant remplacer le glucose comme substrats oxydatifs pour le muscle travaillant. La complémentation de 0.6 g/kg/j de protéines ne modifie pas ces paramètres.

La production de NH_3 est augmentée à l'issue de l'exercice et provient du catabolisme des protéines musculaires qui peuvent apporter de l'énergie et des substrats au muscle qui travaille (Dohm et coll., 1987).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AFTRING R.P., K.P. BLOCK et M.G. BUSE - Leucine and isoleucine activate skeletal muscle branched chain α keto acid dehydrogenase in vivo. *Am. J. Physiol.*, 1986, 250 : 599 - 604
- 2 - CARRARO F., W.H. HARTL, C.A. STUART, D.L. LAYMAN, F. JAROOR et R. WOLFE - Whole body and plasma protein synthesis in exercise and recovery in human subjects. *Am. J. Physiol.*, 1990a, 258 : 821 - 831
- 3 - CARRARO F., C.A. STUART, W.H. HARTL, J. ROSENBLATT et R. WOLFE - Effect of exercise and recovery on muscle protein synthesis in human subjects. *Am. J. Physiol.*, 1990b, 259 : 470 - 476
- 4 - CHEVALLIER F. - Biodynamique et indicateur. *Gordon and Breach Ed. London* : 207
- 5 - COBELLI C., M.P. SACCOMANI, P. TESSARI, G. BIOLO, L. LUZI et D.E. MATTHEWS - Compartmental model of leucine kinetics in humans. *Am. J. Physiol.*, 1991, 261 : 539 - 550
- 6 - COSTILL D.L., K. SPARKS, R. GREGOR et C. TURNER - Muscle glycogen utilization during exhaustive running. *J. Appl. Physiol.*, 31 (1971) : 353 - 356
- 7 - DARMAUN D., P. FROGUEL, M. RONGIER and J.J. ROBERT - Aminoacid exchange between plasma and erythrocyte in vivo in humans. *J. Appl. Physiol.*, 1989, 67 : 2383 - 2388
- 8 - DEVLIN J.T., I. BRODSKY, A. SCRIMGEOUR, S. FULLER et D.M. BIER - Amino acid metabolism after intensive exercise. *Am. J. Physiol.*, 1990, 288 : 249 - 255
- 9 - DOHM G.L., E.B. TAPSCOTT et G.J. KASPEREK - Protein degradation during endurance exercise and recovery. *Med. Sci. Sports. Exerc.*, 19 (5), 1987 : S166-S171
- 10 - GREENHAFF P.L., M. GLEESON, P.H. WHITING et R.J. MAUGHAN - Dietary composition and acid-base status : limiting factors in the performance of maximal exercise in man. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 1987, 56 : 444 - 450
- 11 - GUEZENNEC C.Y. - Données récentes sur l'influence de l'exercice sur le métabolisme protéique. *Science et Sports*, 1989, 4 : 281- 291
- 12 - HOHORST H.H. - [+] lactate determination with lactate dehydrogenase and NAD. In : *Bergmeyer HU (Ed.), Methodes of enzymatic analysis* - Academic Press, New-York, 1963 : 266 - 270
- 13 - HOOD D.A. et R.L. TERJUNG - Effect of α keto acid dehydrogenase phosphorylation on branched chain amino acid metabolism in muscle. *Am. J. Physiol.*, 1991, 261 : 628 - 634
- 14 - JACOBS I. - Lactate, muscle glycogen and exercise performance in man. *Acta. Physiol. Scand.* (Suppl. 495), 1981 : 01 - 35
- 15 - KASPEREK G.J. et R.D. SNIDER - Effect of exercise intensity and starvation on activation of branched chain keto acid dehydrogenase by exercise. *Am. J. Physiol.*, 1987, 252 : 33 - 37
- 16 - KNAPIK J., C. MEREDITH, B. JONES, R. FIELDING, V. YOUNG et W. EVANS - Leucine metabolism during fasting and exercise. *J. Appl. Physiol.*, 1991, 70 : 43 - 47
- 17 - LAMONT L.S., D.G. PATEL et S.C. KAHLAN - Leucine kinetics in endurance trained humans. *J. Appl. Physiol.*, 1990, 69 : 1 - 6

- 18 - LOUARD R.J., E.J. BARETT et R.A. GELFAND - Effect of infused branched chain amino acids on muscle and whole body amino acid metabolism in man. *Clinical Science*, 1990, 79 : 457 - 466
- 19 - LEMON P.W.R. et J.P. MULLIN - Effect of initial muscle glycogen levels on protein catabolism during exercise. *J. Appl. Physiol.*, 1980, 48 : 624 - 629
- 20 - MITCH W.E. et A.S. CLARK - Specificity of the effects of leucine and its metabolite on protein degradation in skeletal muscle. *Biochem. J.*, 1984, 222 : 579 - 586
- 21 - ROSENBLATT J., R.R. WOLFE - Calculation of substrate flux using stable isotopes. *Am. J. Physiol.*, 1988, 254 : 526 - 531
- 22 - SALTIN B. et J. KARLSSON - Muscle glycogen utilization during work at different intensities. In : *Muscle metabolism During Exercise.*, Vol. 2 B Pernow and B. Saltin (Eds), New-York : Plenum Press, 1971 : 289 - 299
- 23 - SATABIN P., B. BOIS-JOYEUX, M. CHANEZ, C.Y. GUEZENNEC et J. PERET - Effects of long-term feeding of high-protein or high-part diets on the response to exercise in the rat. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 1989, 58 : 583 - 589
- 24 - SMITH R. - Branched chain amino acids in catabolic states. *Proc. Nutr. Soc.*, 1983, 42 : 473 - 486
- 25 - STEINBERG D. - Fatty acid mobilisation - mechanisms of regulation and metabolic consequences. In : *The control of lipid metabolism*, J.K. Grant, Ed. - London : Academic Press, 1963 : 111 - 138
- 26 - TIEDGEN M. et H.J. SEITZ - Dietary control of circadian variations in seem insulin, glucagon and hepatic cyclic AMP. *J. Nutr.*, 1980, 110 : 876 - 882
- 27 - WAHREN J., P. FELIG, G. AHLBORG et J. JORFELDT - Glucose metabolism during leg exercise in man. *J. Clin. Invest.*, 1971, 50 : 2715
- 28 - WARLBERG J.L., M.K. LEIDY, D.J. STURGILL, E.D. HINKLE, S.J.S. RITCHEY et D.R. SEBOLT - Macronutrient content of a hypoenergy diet affects nitrogen retention and muscle function in weightlifters. *Int. J. Sports. Med.*, 1988, 9 : 261 - 266
- 29 - WILLIAMSON D.H. , J. MELLAUBEY et H.A. KREBS - Enzymatic determination of B-hydroxybutyrate and acetoacetate in blood. *Biochem. J.*, 1962, 82 : 90 - 96

Figure 9

A.R.

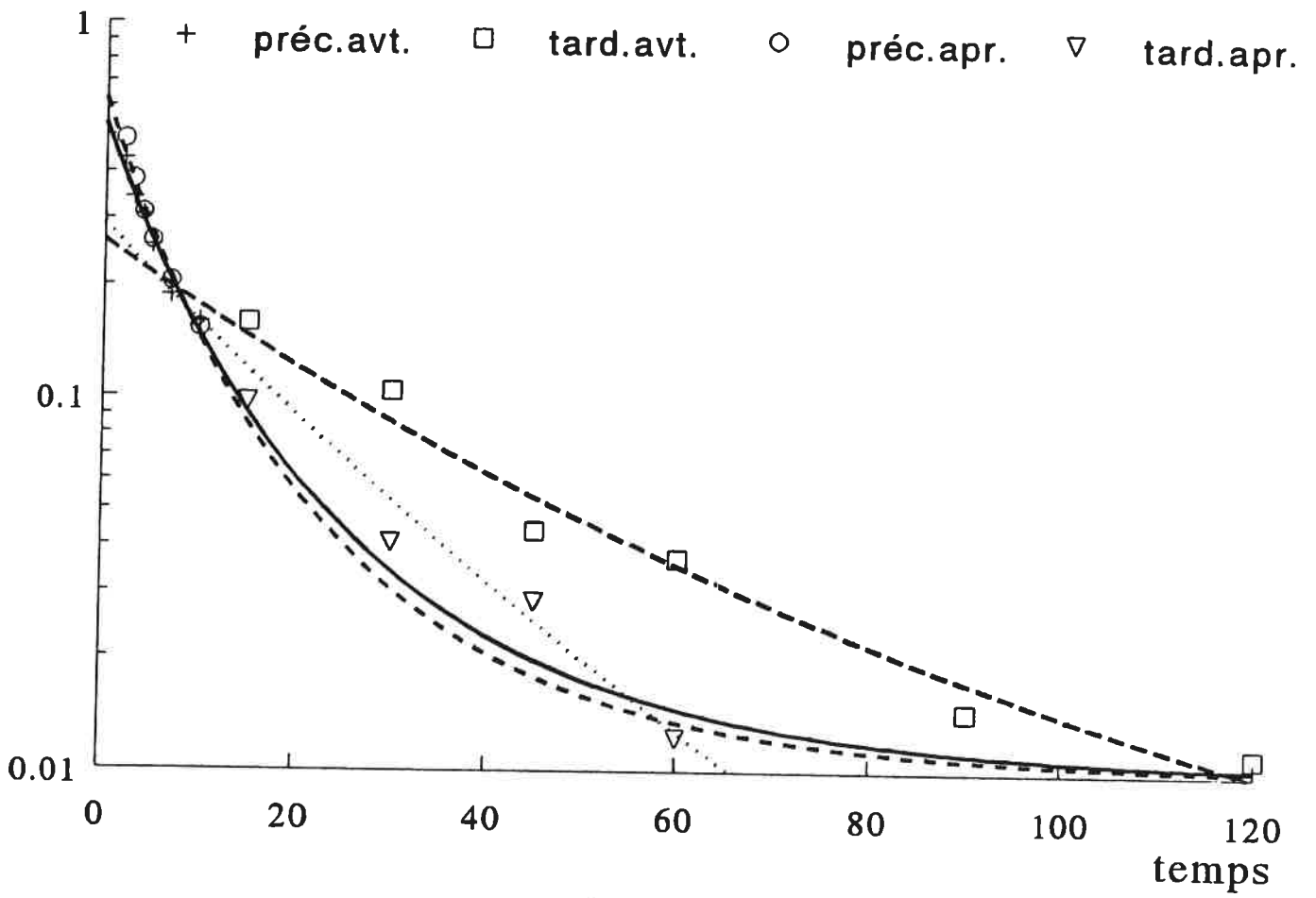


Figure 10

J.R.

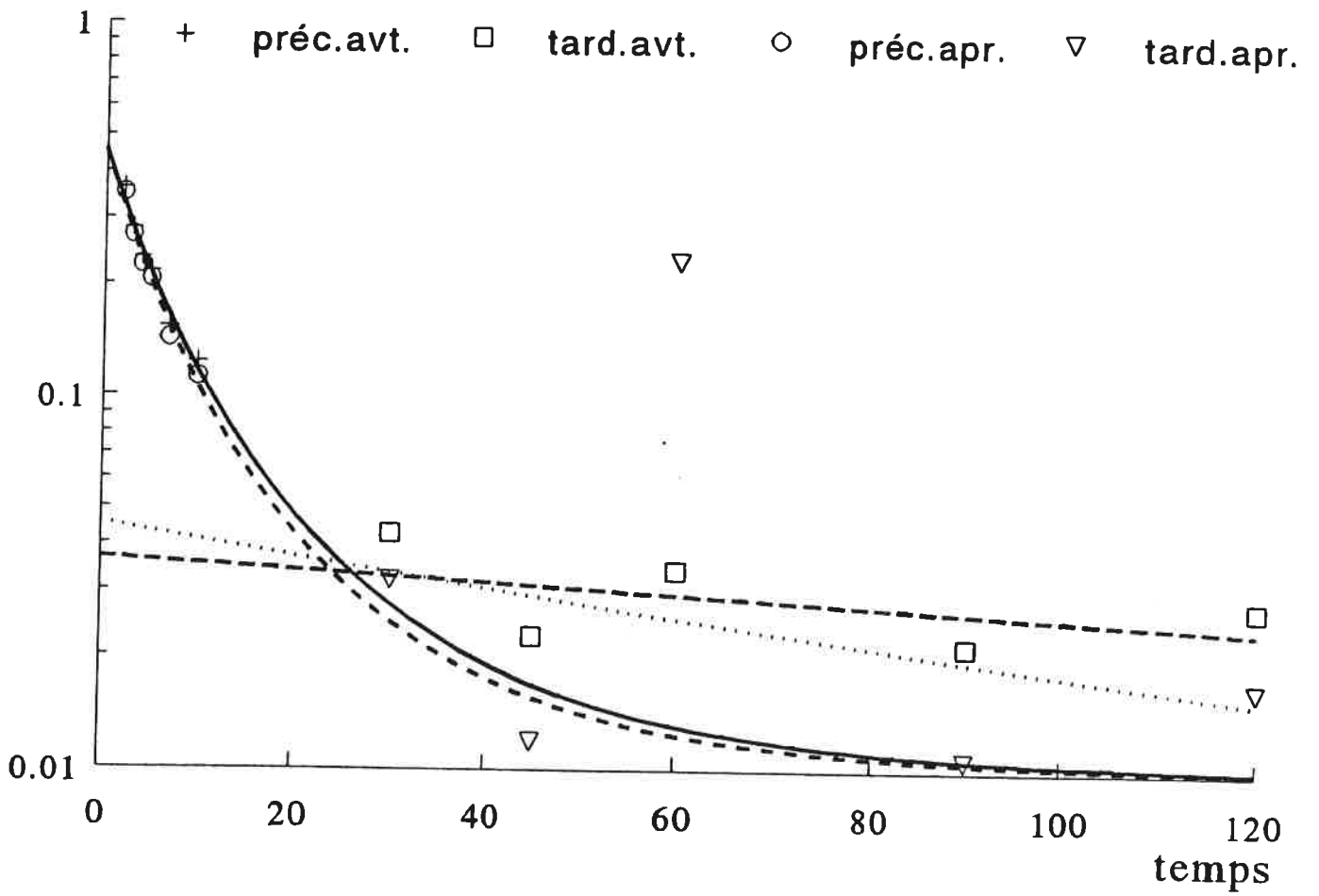


Figure 11

J.R.

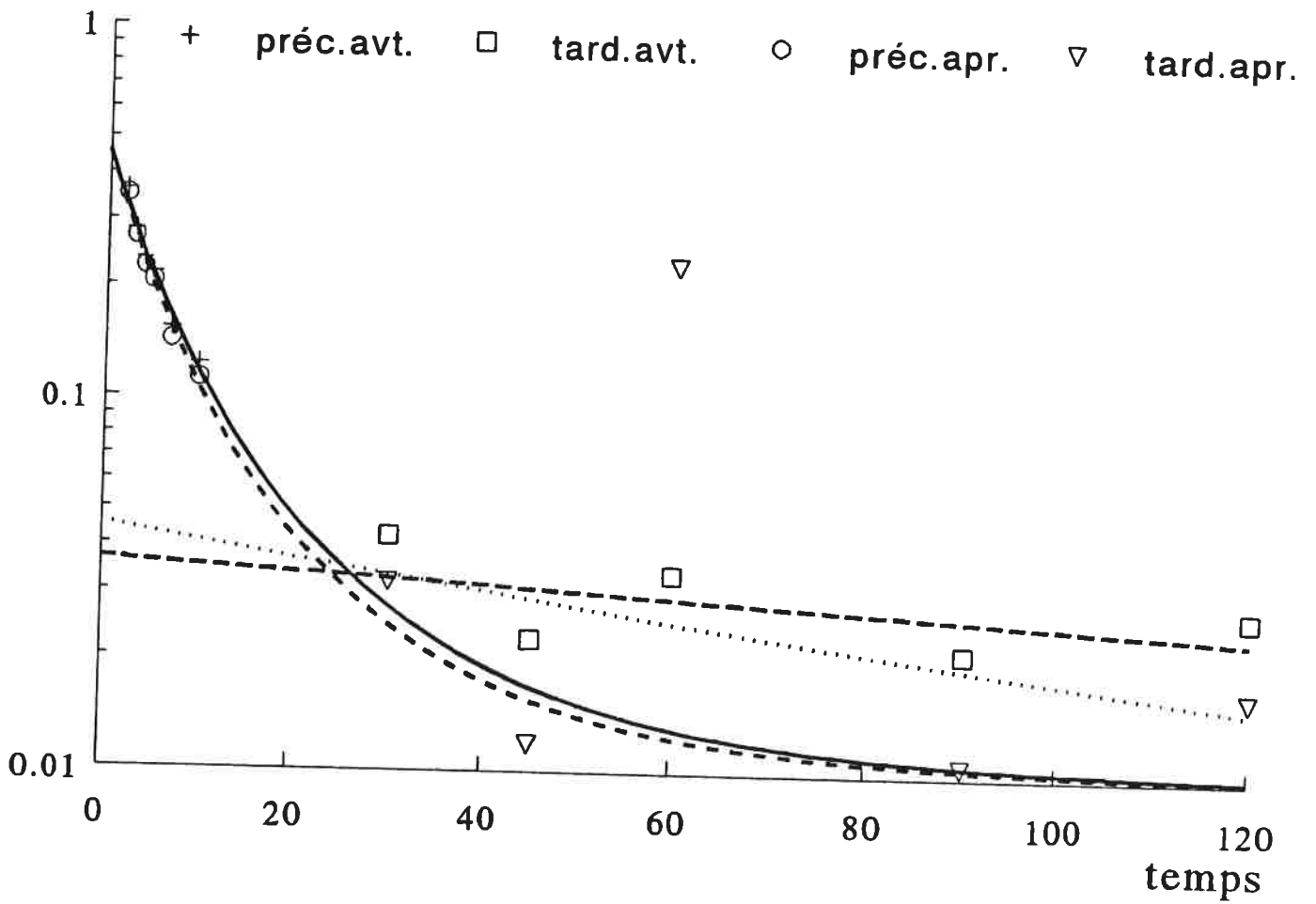


Figure 12

F.L.

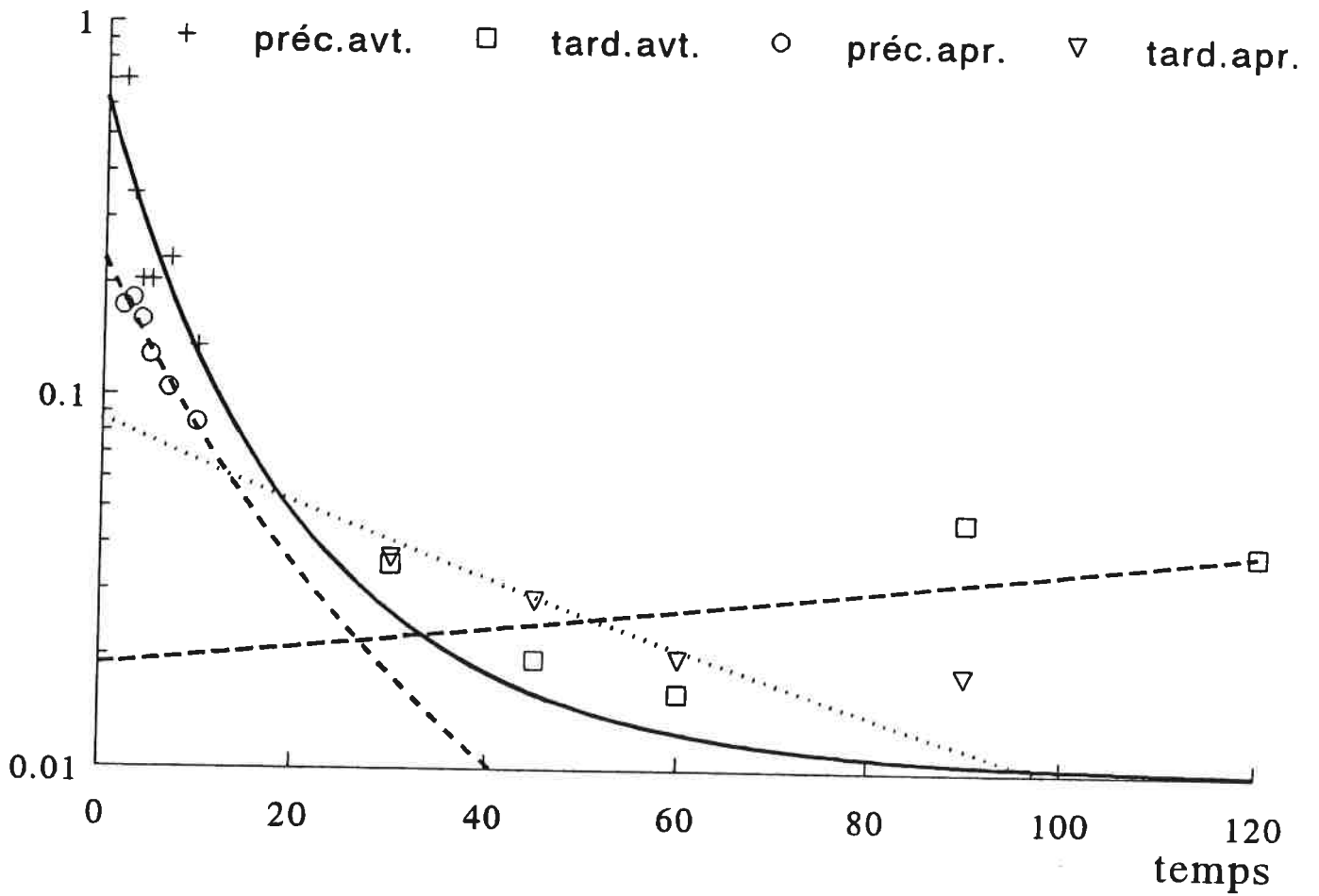


Figure 13

G.G.

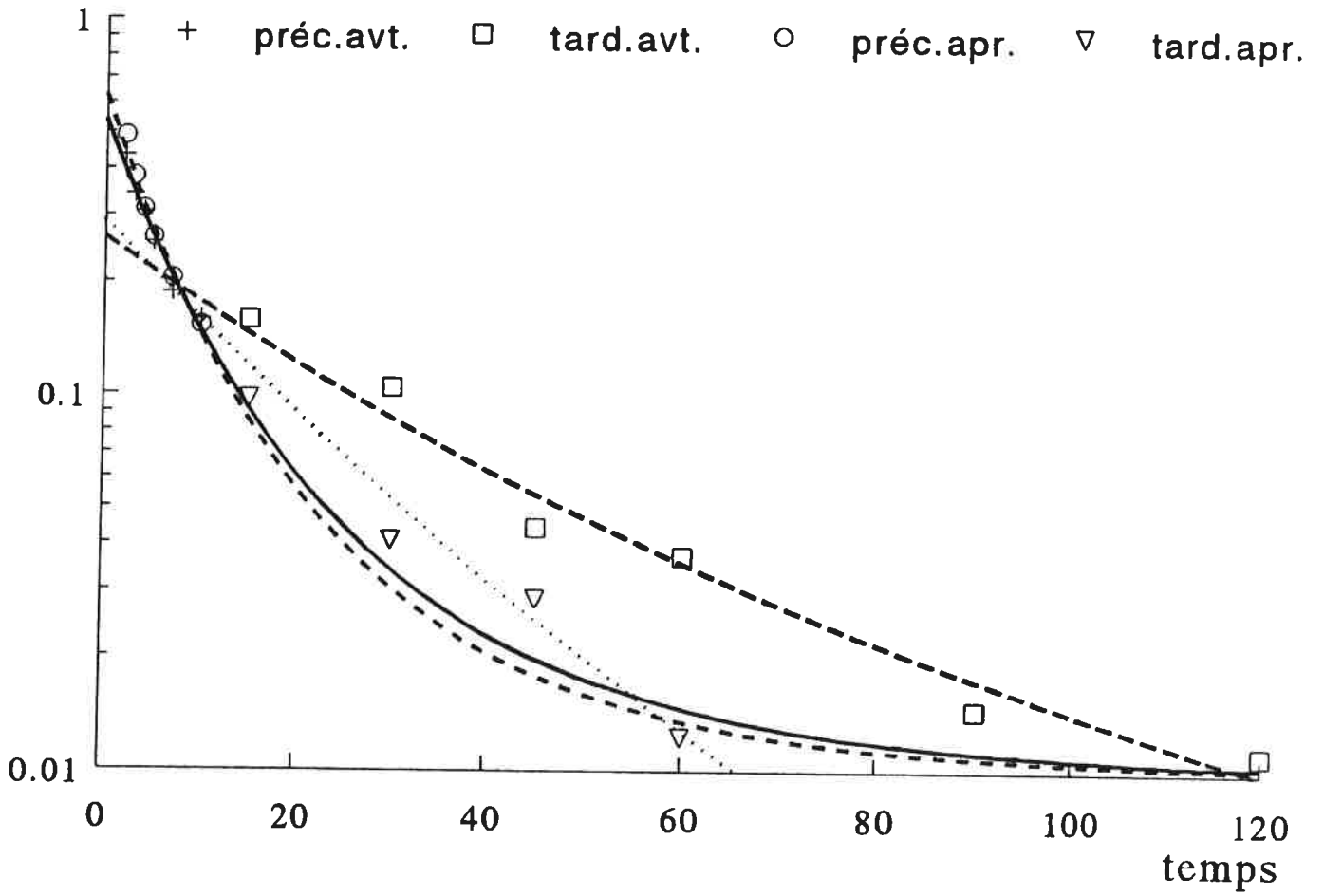


Figure 14

X.B.

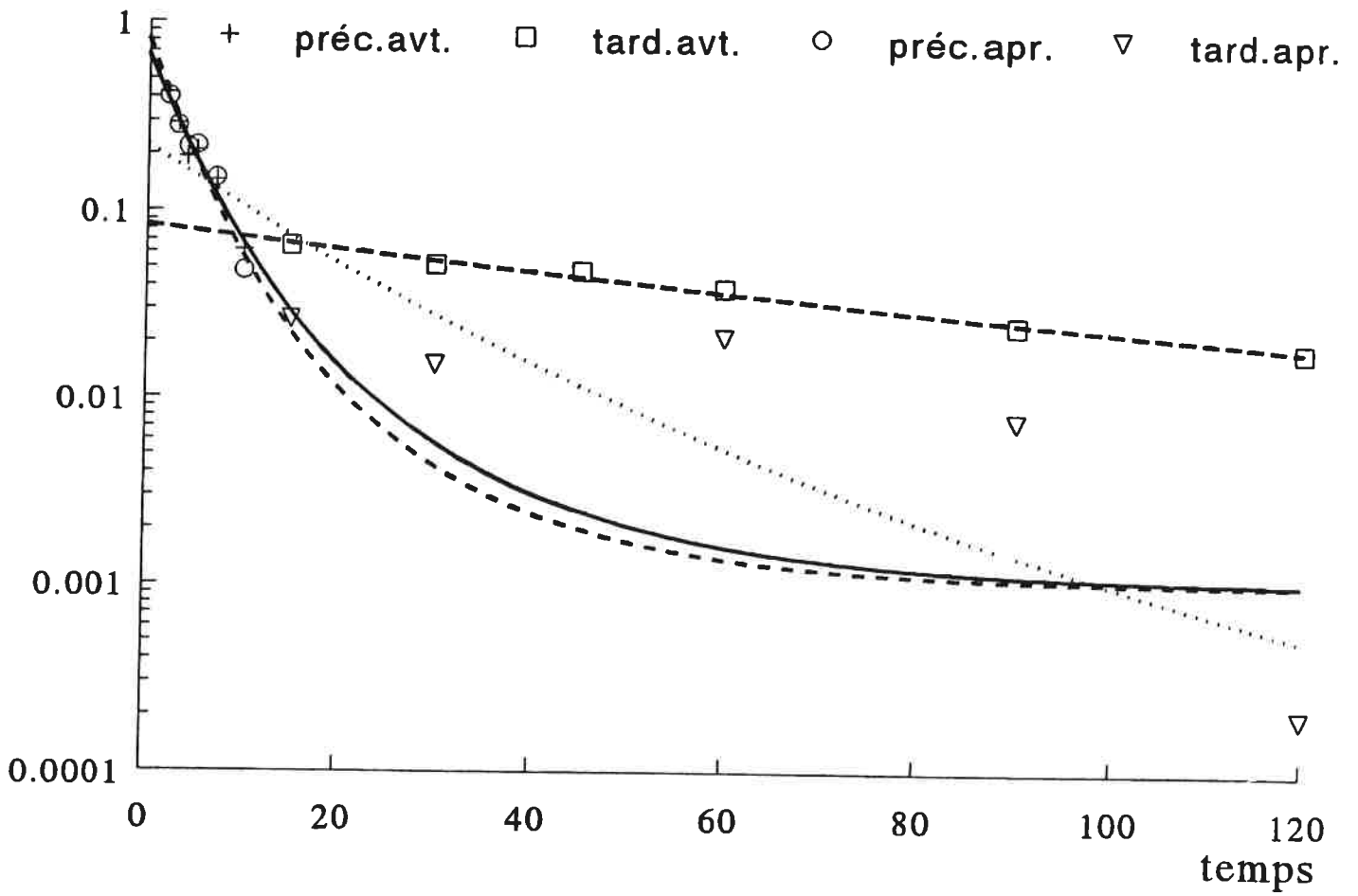
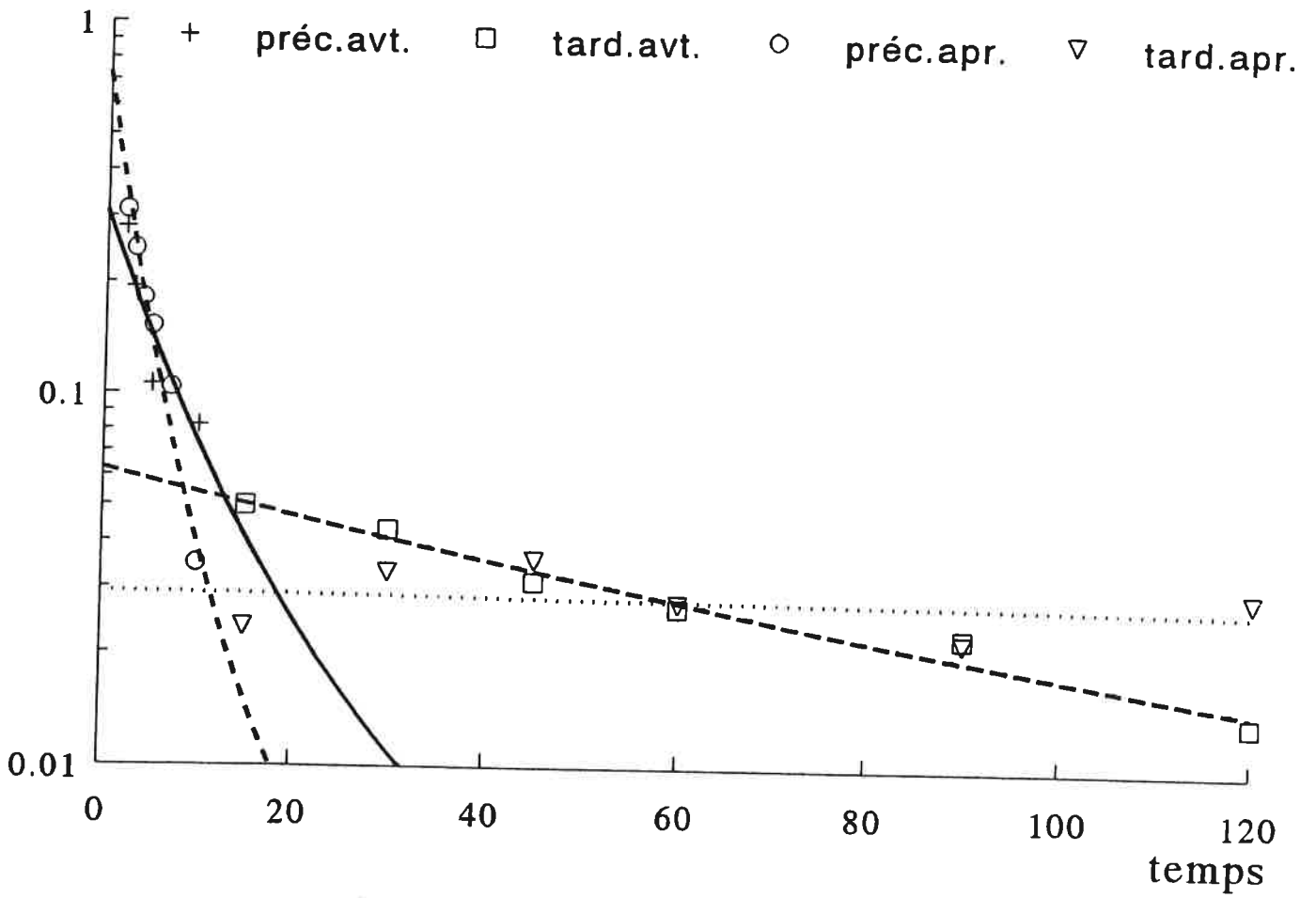


Figure 15

B.R.



| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI _{IV, XI S} | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|-------------|--------|-------------------------|---------|------------------|--------------------------------|--------------------------|--------|----------|-----------|----------|
| | signal | résultat μmol LeuC13 | signal | résultat S.U. | signal | résultat μmol leucine | signal | résultat | signal | résultat |
| gamme | | | | | | | | | | |
| 75 | - | | | | | 75 | | | | |
| 125 | 0.186 | 18,93 | 0.1595 | 0,1738 | 4.85 | 125 | 1.166 | 107 | 3835 | 0,148 |
| 175 | 0.228 | 22,99 | 0.155 | | 6.476 | 175 | 1.471 | 149 | 3519 | |
| 125 +20 | 0.3697 | 36,70 | 0.3463 | 0,349 | 5.428 | 143 | 1.067 | 93 | 6871 | 0,259 |
| 125 +40 | 0.5783 | 56,87 | 0.5739 | 0,521 | 6.331 | 171 | 1.125 | 101 | 9135 | 0,342 |
| REPOS | 0.1461 | 15,07 | 0.1488 | 0,1607 | 4.18 | 104 | 0.9819 | 81 | 0.034 | 0,008 |
| Ap exercice | 0.2197 | 22,19 | 0.1498 | 0,1617 | 6.035 | 161 | 1.466 | 148 | 3640 | 0,141 |
| 2 | 0.7043 | 69,06 | 0.4694 | 0,4745 | 7.873 | 218 | 1.5 | 153 | 8968 | 0,336 |
| 3 | 0.5587 | 54,98 | 0.4012 | 0,4078 | 7.824 | 216 | 1.393 | 138 | 7141 | 0,270 |
| 4 | 0.4851 | 47,86 | 0.3349 | 0,3429 | 7.817 | 216 | 1.448 | 146 | 6206 | 0,235 |
| 5 | 0.4661 | 46,02 | 0.3053 | 0,3139 | 7.35 | 202 | 1.527 | 157 | 6342 | 0,240 |
| 7 | 0.3921 | 38,86 | 0.2559 | 0,2655 | 6.824 | 186 | 1.532 | 158 | 5747 | 0,219 |
| 10 | 0.3514 | 34,92 | 0.1855 | 0,1966 | 6.942 | 189 | 1.894 | 208 | 5063 | 0,193 |
| 15 | 0.2659 | 26,65 | 0.1738 | 0,1852 | 6.59 | 179 | 1.53 | 157 | 4034 | 0,156 |
| 30 | 0.2882 | 28,81 | 0.1838 | 0,1949 | 7.182 | 197 | 1.568 | 163 | 4013 | 0,155 |
| 45 | 0.2886 | 28,85 | 0.1866 | 0,1977 | 6.488 | 175 | 1.547 | 160 | 4449 | 0,171 |
| 60 | 0.2863 | 28,63 | 0.178 | 0,1893 | 6.959 | 190 | 1.608 | 168 | 4114 | 0,159 |
| 90 | 0.263 | 26,37 | 0.1723 | 0,1837 | 6.495 | 176 | 1.526 | 157 | 4048 | 0,156 |
| 120 | 0.2768 | 27,71 | 0.1798 | 0,191 | 6.458 | 174 | 1.54 | 159 | 4286 | 0,165 |

SUJET B. R. - TABLEAU I

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|
| | 228/192 signal | résultat μmol Leu C13 | 228/227 signal | résultat S.U. | 182/192 signal | résultat μmol leucine | 227/192 signal | résultat signal | 228/192 signal | résultat |
| gamme | | | | | | | | | | |
| 75 | 0,0964 | | 0,1512 | | 3,426 | | 75 | 0,6373 | 66,08 | 2813 |
| (14,85)125 | 0,1509 | 14,86 | 0,1453 | 0,1349 | 5,467 | | 125 | 1,039 | 110 | 2761 |
| 175 | 0,2016 | | 0,1433 | | 7,56 | | 175 | 1,406 | 154 | 2666 |
| 125 +20(34,8) | 0,3388 | 33,86 | 0,3166 | 0,3046 | 6,365 | | 146 | 1,071 | 115 | 5329 |
| 125 +40(54,8) | 0,559 | 52,86 | 0,5438 | 0,4714 | 8,148 | | 189 | 1,032 | 111 | 6855 |
| REPOS | 0,1631 | 16,53 | 0,1536 | 0,1513 | 4,239 | | 95 | 1,055 | 113 | 3824 |
| Ap exercice | 0,1903 | 19,06 | 0,1384 | 0,1385 | 5,733 | | 131 | 1,375 | 150 | 3319 |
| 1,2 | 0,7331 | 69,50 | 0,4738 | 0,4198 | 8,314 | | 193 | 1,547 | 169 | 8818 |
| 2,5 | 0,483 | 46,26 | 0,3695 | 0,3323 | 6,787 | | 157 | 1,307 | 142 | 7117 |
| 5,2 | 0,4056 | 39,07 | 0,2644 | 0,2442 | 7,622 | | 177 | 1,534 | 168 | 5322 |
| 10 | 0,3025 | 29,49 | 0,2362 | 0,2206 | 6,41 | | 147 | 1,281 | 139 | 4719 |
| 18 | 0,268 | 26,28 | 0,1979 | 0,1884 | 6,163 | | 141 | 1,354 | 147 | 4349 |
| 30 | 0,2649 | 25,99 | 0,1899 | 0,1817 | 6,22 | | 143 | 1,395 | 152 | 4259 |
| 45 | 0,2455 | 24,19 | 0,1759 | 0,17 | 6,174 | | 142 | 1,395 | 152 | 3976 |
| 60 | 0,2432 | 23,98 | 0,1704 | 0,1654 | 6,509 | | 150 | 1,427 | 156 | 3736 |
| 90 | 0,2526 | 24,85 | 0,1654 | 0,1612 | 6,954 | | 161 | 1,527 | 167 | 3632 |
| 120 | 0,2496 | 24,57 | 0,1547 | 0,1522 | 7,253 | | 168 | 1,613 | 177 | 3441 |

SUJET B.R. - TABLEAU 2

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|-------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|
| | 228/192 signal | résultat μmol LeuC13 | 228/227 signal | résultat S.U. | 182/192 signal | résultat μmol leucine | 227/192 signal | résultat signal | 228/192 signal | résultat |
| gamme | | | | | | | | | | |
| 75 | 0,0979 | | 0,1568 | | 2,738 | 75 | 0,6242 | 66,08 | 3574 | |
| (14,85)125 | 0,156 | 14,86 | 0,1484 | 0,1349 | 4,634 | 125 | 1,051 | 110 | 3331 | 0,1189 |
| 175 | 0,2206 | | 0,1442 | | 7,154 | 175 | 1,529 | 154 | 3083 | |
| 125 +20(34,8) | 0,3572 | 34,86 | 0,3281 | 0,3131 | 6,119 | 154 | 1,089 | 112 | 5837 | 0,234 |
| 125 +40(54,8) | 0,5523 | 53,86 | 0,5087 | 0,4886 | 6,918 | 172 | 1,086 | 112 | 7983 | 0,320 |
| REPOS | 0,1974 | 18,93 | 0,1689 | 0,1558 | 4,937 | 127 | 1,169 | 120 | 3999 | 0,150 |
| Ap exercice | 0,1391 | 13,04 | 0,1468 | 0,1341 | 4,063 | 107 | 0,9474 | 98 | 3424 | 0,125 |
| 2 | 0,6704 | 66,66 | 0,6458 | 0,6239 | 6,592 | 164 | 1,038 | 107 | 10170 | 0,417 |
| 3 | 0,5511 | 54,62 | 0,5457 | 0,5257 | 6,016 | 151 | 1,01 | 104 | 9161 | 0,373 |
| 4 | 0,4398 | 43,39 | 0,4645 | 0,446 | 5,221 | 134 | 0,9468 | 98 | 8424 | 0,341 |
| 5 | 0,43 | 42,40 | 0,4242 | 0,4064 | 5,463 | 139 | 1,014 | 105 | 7871 | 0,318 |
| 7 | 0,4715 | 46,59 | 0,355 | 0,3385 | 6,741 | 168 | 1,169 | 120 | 6157 | 0,243 |
| 10 | 0,3038 | 29,66 | 0,3027 | 0,2871 | 5,115 | 131 | 1,003 | 104 | 5939 | 0,234 |
| 15 | 0,2469 | 23,92 | 0,2459 | 0,2314 | 5,078 | 130 | 1,004 | 104 | 4862 | 0,187 |
| 30 | 0,206 | 19,79 | 0,1884 | 0,1749 | 5,309 | 136 | 1,093 | 112 | 3880 | 0,145 |
| 45 | 0,1996 | 19,15 | 0,1757 | 0,1625 | 5,315 | 136 | 1,136 | 117 | 3756 | 0,139 |
| 60 | 0,2027 | 19,46 | 0,1593 | 0,1464 | 5,838 | 147 | 1,273 | 130 | 3472 | 0,127 |
| 90 | 0,2524 | 24,48 | 0,1569 | 0,144 | 6,272 | 157 | 1,608 | 162 | 4024 | 0,151 |
| 120 | 0,2601 | 25,25 | 0,1477 | 0,135 | 7,246 | 179 | 1,761 | 177 | 3590 | 0,132 |

SUJET G.G. - TABLEAU 3

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|-------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
| | 228/192 signal | signal | 228/227 signal | signal | 182/192 signal | signal | 227/192 signal | signal | 228/192 signal | signal |
| | résultat | résultat | résultat | résultat | résultat | résultat | résultat | résultat | résultat | résultat |
| gamme | μmol LeuC13 | μmol LeuC13 | S.U. | μmol leucine | μmol leucine | μmol leucine | μmol leucine | μmol leucine | μmol leucine | μmol leucine |
| 75 | 0.1007 | 0.166 | | 2.96 | 75 | 0.6062 | 66.08 | 3401 | | |
| (14,85)125 | 0.1539 | 0.1569 | 0,1349 | 4.597 | 125 | 0.9807 | 110 | 3348 | 0.1189 | |
| 175 | 0.2146 | 0.1478 | | 6.893 | 175 | 1.452 | 154 | 3112 | | |
| 125 +20(34,8) | 0.3331 | 0.2956 | 0,3046 | 6.107 | 158 | 1.127 | 122 | 5455 | 0.234 | |
| 125 +40(54,8) | 0.5374 | 0.4827 | 0,4714 | 6.871 | 177 | 1.113 | 120 | 7822 | 0.320 | |
| REPOS | 0.158 | 0.1889 | 0,1778 | 4.389 | 4 | | 5 | | | |
| Ap exercice | 0.1517 | 0.1558 | 0,1439 | 4.694 | 114 | 0.8367 | 92 | 3601 | 0.137 | |
| | | -0,07 | -0,016 | | 122 | 0.9733 | 106 | 3231 | 0.121 | |
| 2 | 0.6151 | 0.5787 | 0,5773 | 6.547 | 4 | | 5 | | -0,024 | |
| 3 | 0.5371 | 0.4894 | 0,4857 | 6.027 | 169 | 1.063 | 115 | 9395 | 0.397 | |
| 4 | 0.5046 | 0.4556 | 0,4511 | 5.784 | 155 | 1.098 | 119 | 8910 | 0.375 | |
| 5 | 0.4414 | 0.4045 | 0,3987 | 5.633 | 149 | 1.107 | 120 | 8724 | 0.367 | |
| 7 | 0.3413 | 0.3388 | 0,3314 | 5.032 | 146 | 1.091 | 118 | 7835 | 0.327 | |
| 10 | 0.3301 | 0.3109 | 0,3028 | 5.166 | 130 | 1.008 | 110 | 6782 | 0.280 | |
| 15 | 0.274 | 0.2579 | 0,2485 | 4.764 | 134 | 1.062 | 115 | 6391 | 0.262 | |
| 30 | 0.1984 | 0.1989 | 0,188 | 4.469 | 124 | 1.063 | 115 | 5753 | 0.234 | |
| 45 | 0.2082 | 0.1921 | 0,1811 | 5.248 | 116 | 0.997 | 108 | 4439 | 0.175 | |
| 60 | 0.2 | 0.1701 | 0,1585 | 5.194 | 136 | 1.084 | 117 | 3968 | 0.154 | |
| 90 | 0.2052 | 0.1668 | 0,1551 | 5.823 | 135 | 1.175 | 127 | 3850 | 0.149 | |
| 120 | | | | | 150 | 1.23 | 132 | 3525 | 0.134 | |
| | | | | | 147 | | | | | |

SUJET G.G. - TABLEAU 4

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|---------|--------------|---------|----------|------------|--------------|---------|----------|-----------|----------|
| | signal | résultat | signal | résultat | signal | résultat | signal | résultat | signal | résultat |
| | 228/192 | | 228/227 | | 182/192 | | 227/192 | | 228/192 | |
| gamme | signal | μmol Leu C13 | signal | S.U. | signal | μmol leucine | signal | | signal | résultat |
| 75 | 0.1371 | | 0.188 | | 3.156 | 75 | 0.7267 | | 4346 | |
| (14,85)125 | 0.1854 | 14,86 | 0.1533 | 0,1349 | 5.052 | 125 | 1.209 | | 3670 | 0,11885 |
| 175 | 0.2469 | | 0.144 | | 7.144 | 175 | 1.714 | | 3456 | |
| 125 +20(34,8) | 0.3898 | 34,86 | 0.3133 | 0,3131 | 6.067 | 149 | 1.244 | | 6424 | 0,234 |
| 125 +40(54,8) | 0.5888 | 53,86 | 0.4687 | 0,4886 | 6.864 | 169 | 1.256 | | 8578 | 0,320 |
| REPOS | 0.2333 | 19,50 | 0.463 | 0,4287 | 6.449 | 158 | 1.605 | | 3678 | 0,117 |
| Ap exercice | 0.2766 | 17,85 | 0.1382 | 0,118 | 6.05 | 148 | 1.567 | | 3580 | 0,116 |
| 2 | 0.6685 | 62,60 | 0.4602 | 0,4791 | 7.485 | 184 | 1.452 | | 8937 | 0,335 |
| 3 | 0.5428 | 50,15 | 0.3889 | 0,3991 | 7.357 | 181 | 1.396 | | 7378 | 0,272 |
| 4 | 0.4646 | 44,39 | 0.3487 | 0,3534 | 6.836 | 168 | 1.392 | | 7289 | 0,260 |
| 5 | 0.4687 | 42,75 | 0.3312 | 0,3344 | 7.049 | 173 | 1.473 | | 6647 | 0,241 |
| 7 | 0.4225 | 38,24 | 0.2753 | 0,2717 | 7.011 | 172 | 1.535 | | 6026 | 0,216 |
| 10 | 0.3276 | 28,84 | 0.2482 | 0,2413 | 6.573 | 160 | 1.32 | | 5037 | 0,175 |
| 15 | | | | | | | | | | |
| 30 | 0.3082 | 26,92 | 0.1763 | 0,1607 | 6.195 | 152 | 1.748 | | 4975 | 0,173 |
| 45 | 0.2589 | 22,04 | 0.1585 | 0,1407 | 6.138 | 151 | 1.633 | | 4217 | 0,142 |
| 60 | 0.2548 | 21,63 | 0.1686 | 0,1521 | 5.95 | 146 | 1.571 | | 4283 | 0,145 |
| 90 | 0.2229 | 18,47 | 0.1574 | 0,1395 | 6.884 | 169 | 1.476 | | 3237 | 0,102 |
| 120 | 0.2354 | 19,71 | 0.1627 | 0,1455 | 6.689 | 164 | 1.446 | | 3529 | 0,114 |

SUJET J. R. - TABLEAU 5

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|----------|-------------------|----------|
| | 228/192 signal | résultat µmol Leu C13 | 228/227 signal | résultat S.U. | 182/192 signal | résultat µmol leucine | 227/192 signal | résultat | 228/192 signal | résultat |
| gamme | | | | | | | | | | |
| 75 | 0.1171 | | 0.1457 | | 3.196 | 75 | 0.8035 | 66.08 | 3663 | |
| (14,85)125 | 0.204 | 14,86 | 0.1283 | 0,1349 | 5.378 | 125 | 1.578 | 110 | 3794 | 0.1189 |
| 175 | 0.25 | | 0.1489 | | 7.544 | 175 | 1.702 | 154 | 3314 | |
| 125 +20(34,8) | 0.3831 | 34,86 | 0.3177 | 0,3131 | 6.304 | 146 | 1.206 | 97 | 6077 | 0.234 |
| 125 +40(54,8) | 0.5705 | 53,86 | 0.4307 | 0,4886 | 7.183 | 167 | 1.324 | 107 | 7942 | 0.320 |
| REPOS | 0.253 | 20,33 | 0.1351 | 0,1321 | 9.222 | 214 | 1.875 | 153 | 2747 | 0,069 |
| Ap exercice | 0.1969 | 14,22 | 0.1322 | 0,1288 | 7.22 | 167 | 1.489 | 121 | 2727 | 0,068 |
| | | -7,24 | | -0,023 | | 1 | | -3 | | -0,064 |
| 2 | 0.5984 | 57,98 | 0.3807 | 0,4136 | 7.873 | 182 | 1.572 | 128 | 7600 | 0,305 |
| 3 | 0.5665 | 54,50 | 0.3664 | 0,3972 | 7.994 | 185 | 1.546 | 125 | 7087 | 0,280 |
| 4 | 0.4262 | 39,21 | 0.3002 | 0,3213 | 7.204 | 167 | 1.42 | 115 | 5917 | 0,223 |
| 5 | 0.4661 | 43,56 | 0.3007 | 0,3219 | 7.069 | 164 | 1.55 | 126 | 6593 | 0,256 |
| 7 | 0.4391 | 40,62 | 0.2911 | 0,3109 | 7.084 | 164 | 1.509 | 122 | 6199 | 0,237 |
| 10 | 0.3744 | 33,57 | 0.2484 | 0,262 | 6.765 | 157 | 1.507 | 122 | 5534 | 0,205 |
| 15 | 0.3313 | 28,87 | 0.2084 | 0,2161 | 6.535 | 152 | 1.59 | 129 | 6070 | 0,231 |
| 30 | 0.2838 | 23,69 | 0.1717 | 0,1741 | 6.623 | 154 | 1.653 | 134 | 4285 | 0,144 |
| 45 | 0.2317 | 18,01 | 0.1728 | 0,1753 | 5.912 | 137 | 1.341 | 108 | 3919 | 0,126 |
| 60 | 0.2323 | 18,08 | 0.1629 | 0,164 | 6.098 | 142 | 1.426 | 115 | 3809 | 0,121 |
| 90 | 0.2142 | 16,11 | 0.1532 | 0,1529 | 6.198 | 144 | 1.398 | 113 | 3456 | 0,104 |
| 120 | 0.2387 | 18,78 | 0.1528 | 0,1524 | 6.776 | 157 | 1.563 | 127 | 3522 | 0,107 |

SUJET J. R. - TABLEAU 6

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI VII.XLS | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|--------|-------------------|--------|--------------------|--------|-------------------|--------|-------------------|--------------|
| | 228/192 signal | signal | 228/227 signal | signal | 182/192 signal | signal | 227/192 signal | signal | 228/192 signal | signal |
| gamme | résultat | | résultat | | résultat | | résultat | | résultat | |
| | μmol Leu C13 | | S.U. | | μmol leucine | | | | | |
| 75 | 0.1133 | | 0.1696 | | 3.21 | | 75 | 0.6683 | 66.08 | 3530 |
| (14,85)125 | 0.1831 | 14,86 | 0.15 | 0,1349 | 5.37 | | 125 | 1.221 | 110 | 3409 0,11885 |
| 175 | 0.2315 | | 0.1464 | | 7.68 | | 175 | 1.582 | 154 | 3014 |
| 125 +20(34,8) | 0.3639 | 34,86 | 0.3303 | 0,3131 | 6.219 | | 143 | 1.102 | 105 | 5857 0,234 |
| 125 +40(54,8) | 0.4964 | 53,86 | 0.504 | 0,4886 | 7.148 | | 164 | 0.985 | 94 | 6944 0,320 |
| REPOS | 0.198 | 15,87 | 0.1437 | 0,128 | 6.293 | | 145 | 1.377 | 131 | 3145 0,100 |
| Ap exercice | 0.1627 | 11,40 | 0.1524 | 0,1367 | 4.964 | | 115 | 1.067 | 101 | 3277 0,107 |
| | | -9,18 | | -0,016 | | | 4 | | 0 | |
| 2 | 1.021 | 119,98 | 0.935 | 0,9185 | 9.076 | | 207 | 1.092 | 104 | 11250 0,548 |
| 3 | 0.5643 | 62,20 | 0.5014 | 0,4853 | 7.568 | | 173 | 1.126 | 107 | 7457 0,338 |
| 4 | 0.4528 | 48,10 | 0.3567 | 0,3408 | 7.49 | | 171 | 1.27 | 121 | 6046 0,260 |
| 5 | 0.4244 | 44,51 | 0.3558 | 0,3399 | 6.471 | | 149 | 1.193 | 113 | 6559 0,288 |
| 7 | 0.3927 | 40,50 | 0.3857 | 0,3697 | 6.05 | | 139 | 1.018 | 97 | 6490 0,285 |
| 10 | 0.3173 | 30,96 | 0.2878 | 0,2719 | 5.835 | | 134 | 1.102 | 105 | 5437 0,226 |
| 15 | 0.2199 | 18,64 | 0.1967 | 0,1803 | 5.496 | | 127 | 1.122 | 107 | 4002 0,147 |
| 30 | 0.2017 | 16,34 | 0.1879 | 0,1721 | 5.441 | | 125 | 1.074 | 102 | 3708 0,131 |
| 45 | 0.1887 | 14,69 | 0.1721 | 0,1563 | 5.51 | | 127 | 1.096 | 104 | 3424 0,115 |
| 60 | 0.2003 | 16,16 | 0.1686 | 0,1528 | 5.852 | | 135 | 1.118 | 106 | 3423 0,115 |
| 90 | 0.1833 | 14,01 | 0.1994 | 0,1836 | 4.566 | | 106 | 0.9194 | 87 | 3997 0,147 |
| 120 | 0.2034 | 16,55 | 0.1918 | 0,176 | 5.221 | | 121 | 1.067 | 101 | 3897 0,141 |

SUJET F.L. - TABLEAU 7

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------|
| | 228/192 signal | résultat μmol Leu C13 | 228/227 signal | résultat S.U. | 182/192 signal | résultat μmol leucine | 227/192 signal | résultat signal | 228/192 signal | résultat |
| gamme | | | | | | | | | | |
| 75 | 0.1078 | | 0.1729 | | 2.629 | | 75 | 0.624 | 66.08 | 4102 |
| (14,85)125 | 0.1541 | 14,86 | 0.1586 | 0,1349 | 4.266 | | 125 | 0.9717 | 110 | 3612 0.11885 |
| 175 | 0.2314 | | 0.1671 | | 5.979 | | 175 | 1.385 | 154 | 3870 |
| 125 +20(34,8) | 0.3046 | 34,86 | 0.3192 | 0,3131 | 5.122 | | 150 | 0.9544 | 105 | 5948 0.234 |
| 125 +40(54,8) | 0.5484 | 53,86 | 0.5168 | 0,4886 | 5.718 | | 168 | 1.061 | 118 | 9591 0.320 |
| REPOS | 0.2228 | 23,58 | 0.1736 | 0,1569 | 5.844 | | 171 | 1.283 | 143 | 3813 0,140 |
| Ap exercice | 0.1984 | 21,15 | 0.1569 | 0,1404 | 5.971 | | 175 | 1.265 | 141 | 3323 0,124 |
| 2 | 0.7249 | 73,53 | 0.5853 | 0,5618 | 7.6 | | 224 | 1.239 | 138 | 9537 0,328 |
| 3 | 0.5389 | 55,02 | 0.4529 | 0,4316 | 6.67 | | 196 | 1.19 | 133 | 8079 0,280 |
| 4 | 0.475 | 48,67 | 0.3523 | 0,3326 | 6.688 | | 197 | 1.355 | 152 | 7103 0,248 |
| 5 | 0.5584 | 56,96 | 0.369 | 0,349 | 7.638 | | 225 | 1.513 | 170 | 7311 0,255 |
| 7 | 0.4074 | 41,94 | 0.3042 | 0,2853 | 6.307 | | 185 | 1.339 | 150 | 6460 0,227 |
| 10 | 0.243 | 25,59 | 0.22 | 0,2025 | 5.355 | | 157 | 1.105 | 123 | 4538 0,164 |
| 15 | 0.2499 | 26,28 | 0.2234 | 0,2058 | 5.164 | | 151 | 1.119 | 124 | 4840 0,174 |
| 30 | 0.3164 | 32,89 | 0.2705 | 0,2522 | 5.993 | | 176 | 1.169 | 130 | 5279 0,188 |
| 45 | 0.2274 | 23,44 | 0.2058 | 0,1885 | 5.359 | | 157 | 1.076 | 120 | 4132 0,151 |
| 60 | 0.2602 | 27,30 | 0.1966 | 0,1795 | 5.428 | | 159 | 1.324 | 148 | 4794 0,172 |
| 90 | 0.225 | 23,80 | 0.1823 | 0,1654 | 5.086 | | 149 | 1.235 | 138 | 4425 0,160 |
| 120 | 0.2227 | 23,51 | 0.1758 | 0,159 | 5.509 | | 161 | 1.263 | 141 | 4032 0,147 |

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | VI.XLS | | C12/EI | | C13/Leu T | | |
|---------------|---------|--------|---------|--------|------------|--------|----------|--------------|---------|--------|-----------|---------|----------|
| | 228/192 | signal | 228/227 | signal | 182/192 | signal | résultat | μmol leucine | 227/192 | signal | résultat | signal | résultat |
| gamme | | | | | | | S.U. | | | | | | |
| 75 | 0.1111 | | 0.14 | | 3.945 | | | 75 | 0.7951 | | 66.08 | 2817 | |
| (0)125 | 0.1656 | | 0.1437 | 0.1349 | 5.992 | | | 125 | 1.152 | | 110 | 2764 | 0.11885 |
| 175 | 0.2251 | | 0.1518 | | 8.339 | | | 175 | 1.484 | | 154 | 2699 | |
| 125 +20(34,8) | 0.4213 | | 0.3174 | 0.3131 | 6.832 | | | 142 | 1.327 | | 133 | 6167 | 0.234 |
| 125 +40(54,8) | 0.624 | | 0.4915 | 0.4886 | 7.668 | | | 161 | 1.27 | | 126 | 8137 | 0.320 |
| REPOS | 0.187 | | 0.1468 | 0.1386 | 7.37 | | | 154 | 1.274 | | 127 | 0.02537 | 0,014 |
| Ap exercice | 0.209 | | 0.1489 | 0.1407 | 6.981 | | | 145 | 1.404 | | 143 | 2993 | 0,124 |
| 2 | 0.7153 | | 0.5427 | 0.5412 | 9.073 | | | 193 | 1.318 | | 132 | 7884 | 0,306 |
| 3 | 0.6639 | | 0.4245 | 0.421 | 8.898 | | | 189 | 1.564 | | 164 | 7461 | 0,290 |
| 4 | 0.7019 | | 0.3603 | 0.3557 | 9.878 | | | 211 | 1.948 | | 213 | 7106 | 0,277 |
| 5 | 0.6902 | | 0.3644 | 0.3599 | 12.77 | | | 277 | 1.894 | | 206 | 5401 | 0,214 |
| 7 | 0.5861 | | 0.294 | 0.2883 | 10.62 | | | 228 | 1.99 | | 218 | 5520 | 0,218 |
| 10 | 0.3165 | | 0.194 | 0.1866 | 7.518 | | | 157 | 1.632 | | 172 | 4209 | 0,169 |
| 15 | 0.2683 | | 0.1726 | 0.1648 | 7.45 | | | 156 | 1.555 | | 162 | 3602 | 0,147 |
| 30 | 0.2723 | | 0.1617 | 0.1537 | 7.138 | | | 149 | 1.684 | | 179 | 3816 | 0,155 |
| 45 | 0.3104 | | 0.1852 | 0.1776 | 7.142 | | | 149 | 1.676 | | 178 | 4346 | 0,175 |
| 60 | 0.2171 | | 0.1676 | 0.1597 | 6.924 | | | 144 | 1.296 | | 129 | 3136 | 0,130 |
| 90 | 0.2168 | | 0.1543 | 0.1462 | 6.503 | | | 134 | 1.404 | | 143 | 3334 | 0,137 |
| 120 | 0.2115 | | 0.147 | 0.1388 | 6.68 | | | 138 | 1.439 | | 148 | 3767 | 0,131 |

SUJET X.B. - TABLEAU 9

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|
| | 226/192 signal | résultat µmol Leu C13 | 228/227 signal | résultat S.U. | 182/192 signal | résultat µmol leucine | 227/192 signal | résultat signal | 228/192 signal | résultat |
| gamme | | | | | | | | | | |
| 75 | 0,0964 | | 0,1512 | | 3,426 | 75 | 0,6373 | 66,08 | 2813 | |
| (14,85)125 | 0,1509 | 14,86 | 0,1453 | 0,1349 | 5,467 | 125 | 1,039 | 110 | 2761 | 0,1189 |
| 175 | 0,2016 | | 0,1433 | | 7,56 | 175 | 1,406 | 154 | 2666 | |
| 125 +20(34,8) | 0,3388 | 33,86 | 0,3166 | 0,3046 | 6,365 | 146 | 1,071 | 115 | 5329 | 0,234 |
| 125 +40(54,8) | 0,559 | 52,86 | 0,5438 | 0,4714 | 8,148 | 189 | 1,032 | 111 | 6855 | 0,320 |
| REPOS | 0,1199 | 12,52 | 0,1149 | 0,1188 | 5,739 | 131 | 1,043 | 112 | 2089 | 0,083 |
| Ap exercice | 0,1434 | 14,70 | 0,1412 | 0,1409 | 6,045 | 139 | 1,016 | 109 | 2372 | 0,097 |
| 2,5 | 3,447 | 321,67 | 2,47 | 2,0936 | 26,47 | 633 | 1,396 | 152 | 1302 | 0,045 |
| 5,5 | 0,8034 | 76,03 | 0,6712 | 0,5853 | 9,219 | 215 | 1,197 | 129 | 8716 | 0,406 |
| 11,5 | 0,2586 | 25,41 | 0,2457 | 0,2285 | 6,414 | 147 | 1,053 | 113 | 4032 | 0,178 |
| 15,5 | 0,2881 | 28,15 | 0,2588 | 0,2395 | 6,893 | 159 | 1,113 | 120 | 4179 | 0,185 |
| 29 | 0,2026 | 20,20 | 0,1943 | 0,1854 | 5,705 | 130 | 1,043 | 112 | 3552 | 0,154 |
| 45 | 0,1912 | 19,14 | 0,2077 | 0,1967 | 5,469 | 125 | 0,9208 | 98 | 3497 | 0,151 |
| 60 | 0,1908 | 19,11 | 0,1966 | 0,1873 | 5,289 | 120 | 0,9707 | 104 | 3608 | 0,157 |
| 90 | 0,2034 | 20,28 | 0,1617 | 0,1581 | 6,031 | 138 | 1,258 | 136 | 3373 | 0,145 |
| 120 | 0,1857 | 18,63 | 0,1607 | 0,1572 | 5,948 | 136 | 1,156 | 125 | 3122 | 0,133 |

SUJET A.R. - TABLEAU 10

| Temps | C13/EI | | C13/C12 | | Leu Tot/EI | | C12/EI | | C13/Leu T | |
|---------------|---------|--------------|---------|----------|------------|----------|---------|----------|-----------|----------|
| | signal | résultat | signal | résultat | signal | résultat | signal | résultat | signal | résultat |
| | 228/192 | | 228/227 | | 182/192 | | 227/192 | | 228/192 | |
| gamme | | μmol Leu C13 | | S.U. | | | | | | |
| | 75 | 0,1074 | 0,1454 | | 4,306 | | 75 | 0,7391 | 66,08 | 2495 |
| (14,85)125 | | 0,1488 | 0,1406 | 0,1349 | 6,03 | | 125 | 1,059 | 110 | 2467 |
| 175 | | 0,207 | 0,1361 | | 8,803 | | 175 | 1,521 | 154 | 2351 |
| 125 +20(34,8) | | 0,3626 | 0,3114 | 0,3046 | 7,517 | | 150 | 1,164 | 129 | 4823 |
| 125 +40(54,8) | | 0,55 | 0,5063 | 0,4714 | 8,136 | | 163 | 1,086 | 121 | 6759 |
| | | | | | -14 | | | | | |
| REPOS | | 0,2108 | 0,1373 | 0,1361 | 7,461 | | 149 | 1,535 | 171 | 2826 |
| Ap exercice | | 0,1602 | 0,1362 | 0,1351 | 5,811 | | 113 | 1,176 | 131 | 2757 |
| | | | 0,40 | 0,01 | | | -14 | | | |
| | 2,5 | 0,4832 | 0,4085 | 0,3852 | 7,065 | | 140 | 1,183 | 131 | 6839 |
| | 3,2 | 0,4902 | 0,3982 | 0,3758 | 7,262 | | 144 | 1,231 | 137 | 6750 |
| | 4 | 0,4595 | 0,3553 | 0,3364 | 7,126 | | 141 | 1,293 | 144 | 6449 |
| | 5 | 0,4085 | 0,3183 | 0,3024 | 6,291 | | 123 | 1,283 | 143 | 6492 |
| | 7 | 0,3485 | 0,2866 | 0,2733 | 6,011 | | 117 | 1,216 | 135 | 5797 |
| | 10 | 0,1856 | 0,1718 | 0,1678 | 4,941 | | 94 | 1,08 | 120 | 3756 |
| | 15 | 0,2034 | 0,1531 | 0,1506 | 5,288 | | 101 | 1,328 | 148 | 3847 |
| | 30 | 0,2056 | 0,1441 | 0,1424 | 5,191 | | 99 | 1,427 | 159 | 3962 |
| | 47 | 0,2338 | 0,1563 | 0,1536 | 5,378 | | 103 | 1,496 | 166 | 4348 |
| | 60 | 0,3146 | 0,2638 | 0,2523 | 5,803 | | 112 | 1,193 | 133 | 5421 |
| | 90 | 0,2657 | 0,2223 | 0,2142 | 5,013 | | 95 | 1,33 | 148 | 5898 |
| | 120 | 0,3397 | 0,2985 | 0,2842 | 5,565 | | 107 | 1,138 | 126 | 6104 |

SUJET A.R. - TABLEAU 11

CONCLUSION DES 3 ETUDES

Ces 3 études mettent en évidence l'intérêt de compléments protéiques et les limites de leur utilisation :

- la première étude confirme l'utilisation préférentielle des acides aminés branchés lors d'un raid alpin qui réunit les conditions rencontrées lors de situations militaires. Dans ce cas, un apport de protéines standard permet de maintenir le statut circulant en acides aminés branchés mais ne joue pas de rôle sur la performance,
- la deuxième étude indique qu'un apport spécifique d'acides aminés branchés lors d'un protocole d'entraînement en force par électrostimulation augmente la performance musculaire par le biais de modifications du métabolisme musculaire,
- la troisième étude confirme l'existence d'adaptations métaboliques sous l'effet d'un régime enrichi en acides aminés branchés. Ces adaptations semblent s'effectuer au niveau des processus d'augmentation des synthèses protéiques dans la phase de récupération.

Ces résultats indiquent qu'un apport spécifique en acides aminés branchés peut être efficace pour épargner le capital protéique lors des situations de catabolisme.

Sur le plan pratique, l'intérêt de l'apport en AAB peut s'envisager :

- en clinique, dans les situations d'atrophie musculaire résultant de la dénutrition, de l'immobilisation, au choc septique,
- en médecine spatiale, afin de prévenir l'atrophie musculaire des vols de longue durée,
- dans des situations environnementales pouvant conduire à une négativation de la balance azotée ; l'hypoxie d'altitude, la diminution des apports alimentaires associée à l'exercice musculaire, la survie.

Toutes ces circonstances peuvent se rencontrer en milieu militaire. Il existe donc un intérêt de concevoir des rations complémentaires permettant d'augmenter l'apport quotidien d'acides aminés branchés.