

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

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

**COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOPHYSIQUE ET BIOLOGIE CELLULAIRE**

**PAR
MATHIEU ROBITAILLE**

**EFFET DU DIABÈTE DE TYPE 1 SUR LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE À
L'EXERCICE SUIVANT L'INGESTION DE ^{13}C -GLUCOSE**

JUILLET 2007

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

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

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

REMERCIEMENTS

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce projet de maîtrise. En particulier, je voudrais remercier ma directrice de recherche, le Dre Carole Lavoie, pour son support et sa disponibilité. Elle a su transmettre sa passion pour la recherche ainsi que ses valeurs d'intégrité, d'honnêteté et de rigueur scientifiques.

Je tiens aussi à remercier de façon distincte le Dr Péronnet de l'Université de Montréal, sans son support ce projet de recherche ne serait pas ce qu'il est aujourd'hui. Merci pour votre temps, vos connaissances et vos qualités de chercheur.

Sur le plan humain, Dre Lavoie et Dr Péronnet, vous êtes sympathiques et attentionnés, ce fut un réel plaisir de pouvoir travailler avec vous.

Merci à mon codirecteur de recherche, le Dr Denis Massicotte de l'Université du Québec à Montréal, pour son support technique.

Finalement, un grand merci à mes collègues de laboratoire, Alexandre Melançon et Elaine de Repentigny, ainsi qu'à Claire Chénard pour leur aide, leur soutien et particulièrement les discussions engagées que nous avons eues.

À tous, recevez l'expression de mes sentiments les plus sincères.

Mathieu Robitaille

RÉSUMÉ

L'insulinothérapie intensive, dans le diabète de type 1, vise à reproduire le schème insulino-sécrétoire physiologique. Toutefois, le contrôle effectué n'est pas parfait et engendre un dérèglement métabolique mis en évidence, entre autre, lors d'une période d'exercice. Ces perturbations peuvent induire chez les patients diabétiques des hypoglycémies per et post-exercice. L'utilisation de collation glucidique pour contrer les hypoglycémies induites par l'exercice est un moyen privilégié chez les patients diabétiques. Cependant, outre les études par Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000), aucune donnée détaillée n'est disponible sur l'effet du diabète de type 1 sur les flux métaboliques lors d'une période d'exercice d'intensité modérée suivant l'ingestion d'une collation glucidique. L'objectif de ce projet de maîtrise est de comparer le métabolisme énergétique des patients diabétiques de type 1 recevant leur dose usuelle d'insuline (3 heures avant l'exercice) à l'exercice suivant l'ingestion de glucose (30 g) à celui des sujets sains. Spécifiquement, nous voulons calculer et comparer les contributions relatives des lipides et des diverses sources de glucides utilisées lors d'une période d'exercice de 60 minutes d'intensité modérée, i.e. 50% du $\dot{V}O_{2\text{max}}$, chez les patients diabétiques et les sujets sains. Pour ce faire, nous avons utilisé la calorimétrie respiratoire indirecte couplée au marquage isotopique (carbone 13) de la solution de glucose ingérée. Lorsque les patients diabétiques s'injectent leur dose usuelle d'insuline 3 heures avant une période d'exercice prolongée et d'intensité modérée, la contribution à la

dépense énergétique des lipides (0-30 minutes : $21,8 \pm 9,1$ vs $32,7 \pm 10,3$ % et 30-60 minutes : $36,2 \pm 12,0$ vs $38,9 \pm 9,4$ %, respectivement) et des glucides (0-30 minutes : $76,3 \pm 9,2$ vs $65,2 \pm 10,2$ % et 30-60 minutes : $61,8 \pm 12,4$ vs $59,0 \pm 9,2$ %, respectivement) est similaire à celle des sujets sains. Lors des 30 dernières minutes de la période d'exercice, la contribution du glucose exogène à la dépense énergétique est inférieure chez les patients diabétiques ($7,9 \pm 1,2$ vs $10,0 \pm 0,8$ %), tout comme la contribution du glucose circulant et du glucose produit par le foie ($14,1 \pm 0,7$ vs $31,3 \pm 4,2$ %). Les patients diabétiques compensent par une utilisation accrue du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire ($39,8 \pm 4,8$ vs $17,7 \pm 3,9$ %). Ceci pourrait s'expliquer par une résistance à l'action de l'insuline et de la contraction musculaire à induire une augmentation du captage cellulaire de glucose chez les patients diabétiques.

CONTRIBUTION DE L'AUTEUR ET DES COAUTEURS DE L'ARTICLE SCIENTIFIQUE PRÉSENTÉ DANS CE MÉMOIRE

Mathieu Robitaille (auteur principal)

- Élaboration du *Formulaire de consentement* et du *Document de présentation au comité d'éthique* de l'UQTR pour les sujets sains de l'étude.
- Recrutement des sujets pour la formation du groupe contrôle.
- Commande et préparation du matériel nécessaire au déroulement du protocole expérimental.
- Recrutement des infirmières nécessaires au déroulement du protocole expérimental.
- Exécution des tests préliminaires pour chaque sujet du groupe contrôle (test de tolérance au glucose et mesure du $\dot{V}O_{2\text{max}}$).
- Exécution du protocole expérimental pour les sujets du groupe contrôle.
- Analyses biochimiques des échantillons prélevés lors du protocole expérimentale du groupe contrôle.
- Raffinement de la technique d'isolation du glucose plasmatique et isolation du glucose plasmatique des échantillons prélevés lors du protocole expérimentale du groupe contrôle.
- Analyse des résultats obtenus.
- Rédaction de l'article scientifique.

Marie-Christine Dubé, John Weisnagel, Denis Prud'homme et Carole Lavoie

- Recrutement des patients diabétiques et exécution du protocole expérimental du groupe diabétique.

Carole Lavoie et François Péronnet

- Support pour l'analyse des données et la rédaction de l'article scientifique.

Denis Massicotte

- Support technique pour les analyses isotopiques.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ii
RÉSUMÉ	iii
CONTRIBUTION DE L'AUTEUR ET DES COAUTEURS DE L'ARTICLE SCIENTIFIQUE PRÉSENTÉ DANS CE MÉMOIRE.....	v
TABLE DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX	x
LISTE DES FIGURES.....	xi
LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS	xiii
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Métabolisme énergétique lors d'un exercice prolongé	1
1.1.1 Oxydation des protéines.....	1
1.1.2 Oxydation des glucides	2
1.1.3 Oxydation des lipides	4
1.2 Techniques utilisées pour étudier le métabolisme énergétique à l'exercice	6
1.2.1 Calorimétrie respiratoire indirecte.....	6
1.2.2 Traçage isotopique.....	8

1.2.2.1	Traceurs intraveineux	9
1.2.2.2	Traceur ingéré	10
1.3	Diabète de type 1 et métabolisme énergétique à l'exercice	12
1.3.1	Diabète de type 1 et exercice	12
1.3.2	Contribution des lipides et des glucides à la DE lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez les patients diabétiques de type 1	15
1.3.3	Contribution des glucides à la DE lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez les patients diabétiques de type 1	21
1.3.3.1	Glucose circulant	21
1.3.3.2	Glycogène musculaire	24
1.3.3.3	Glucose exogène.....	25
1.4	Problématique.....	28
CHAPITRE 2	SUBSTRATE OXIDATION DURING MODERATE EXERCISE WITH ^{13}C-GLUCOSE INGESTION IN TYPE 1 DIABETIC PATIENTS	30
2.1	Résumé en français	31
2.2	Abstract.....	33
2.3	Introduction	34
2.4	Methods	35

2.5 Results	39
2.6 Discussion	41
2.7 Acknowledgements	45
2.8 References.....	46
2.9 Figure legends	54
CHAPITRE 3 DISCUSSION.....	58
3.1 Sommaire des résultats	58
3.2 Études antérieures.....	60
3.3 Mécanismes responsables des perturbations métaboliques à l'exercice	61
3.3.1 Insuline et supplément glucidique	62
3.3.2 Transporteurs du glucose et oxydation du glucose circulant....	63
3.3.3 Contribution du glycogène musculaire à l'oxydation.....	69
3.4 Perspectives de recherche	70
3.4.1 Améliorations au protocole expérimental	70
3.4.2 Hypoglycémie induite par l'exercice	71
BIBLIOGRAPHIE	72

LISTE DES TABLEAUX

1.1	Effet de l'insuline et d'un supplément de glucose sur la contribution des lipides et des glucides à l'exercice.....	17
1.2	Taux de disparition du glucose à l'exercice	23
2.1	Characteristics of the control subjects and diabetic patients; mean (SD); significantly different from control subjects, $p < 0.05$ (*).	50
2.2	Gas exchanges at the mouth at rest and over the 60-min exercise period; mean (SD); significantly different from the interval min 0-30, $p < 0.05$ (*).	51
2.3	Total carbohydrate (CHO) and fat oxidation and percent contribution to the energy yield (% energy) during rest and exercise: the contribution of protein oxidation to the energy yield averaged 2-3 %; mean (SD); significantly different from min 0-30, $p < 0.05$ (*).	52
2.4	Oxidation of glucose, in g, from various sources over the last 30 min of exercise in the control subjects and diabetic patients; mean (SD); significantly different than control subjects, $p < 0.05$ (*).	53

LISTE DES FIGURES

1.1	Utilisation du glycogène musculaire (muscle glycogen), du glucose plasmatique (plasma glucose), des acides gras circulants (plasma FFA), et des triacyglycérols du muscle (muscle Tg, other fat sources) au cours de l'exercice prolongé, en kJ•m	3
1.2	Suivi isotopique du métabolisme d'une solution de glucose enrichie en carbone 13.....	10
1.3	Variation de la concentration d'insuline plasmatique chez les sujets sains et les patients diabétiques à l'exercice 15 minutes suivant l'ingestion de glucose. Adaptée de Robitaille et al. (2007).	14
1.4	Oxydation du glucose exogène chez les sujets sains et chez les patients diabétiques recevant de l'insuline. Différence significative entre les groupes (a). Adaptée de Krzentowski et al. (1981).	26
1.5	Oxydation du glucose exogène chez les sujets sains et chez les patients diabétiques lors de deux périodes successives d'exercice (0-30 et 35-65 minutes). Adaptée de Riddell et al. (2000).	27
2.1	Isotopic composition ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of expired CO_2 (Rexp: bottom) and plasma glucose (Rglu: top), and percentage of plasma glucose arising from exogenous glucose (top) following ^{13}C -glucose ingestion in the control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different in the control subjects and diabetic patients (main effect with interaction for Rglu and Rexp) and significantly different from the control subjects (*): two-way analysis of variance (group x time) with repeated measures on one factor (time), p < 0.05.	55
2.2	Oxidation of glucose from various sources between min 30 and 60 during exercise in control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different from the control subjects (*): one-way analysis of variance for independent measures, p < 0.05.....	56
2.3	Plasma glucose and insulin concentrations in the control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different from the corresponding peak value (*) and significantly different in the control subjects and diabetic patients (main effect with interaction for both variables): two-way analysis of variance (group x time) with repeated measures on one factor (time), p < 0.05.....	57

3.1	Voies de signalisation impliquées dans la translocation des transporteurs de glucose GLUT 4. Stimulation par l'insuline (haut) et par la contraction musculaire (bas).....	65
-----	--	----

LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

DE	Dépense énergétique
MCT	Acide gras à chaîne moyenne
$\dot{V}O_{2\max}$	Consommation maximale d'oxygène
O_2	Oxygène
CO_2	Dioxyde de carbone
$^{12}CO_2$	Dioxyde de carbone composé d'un atome de carbone ¹²
$^{13}CO_2$	Dioxyde de carbone composé d'un atome de carbone ¹³
$\dot{V}O_2$	Volume respiratoire de consommation d'oxygène
$\dot{V}CO_2$	Volume respiratoire de production de dioxyde de carbone
Ra	Taux d'apparition du glucose
Rd	Taux de disparition du glucose
^{12}C -glucose	Molécule de glucose composée d'atomes de carbone ¹²
^{13}C -glucose	Molécule de glucose composée d'atomes de carbone ¹³
PHG	Production hépatique de glucose
Rexo	Enrichissement isotopique de la solution de glucose
Rref	Enrichissement isotopique des gaz expirés avant l'ingestion de glucose enrichi
Rexp	Enrichissement isotopique des gaz expirés suivant l'ingestion de glucose
Rglu	Enrichissement isotopique du glucose plasmatique
Na^+	Cation sodium
GLUT1	Transporteur du glucose isoforme 1
GLUT4	Transporteur du glucose isoforme 4
GLUT12	Transporteur du glucose isoforme 12
ARNm	Acide ribonucléique messager

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE LORS D'UN EXERCICE PROLONGÉ

Dans les exercices d'une durée inférieure à ~30 secondes, au moins la moitié de l'énergie est fournie par le métabolisme anaérobie (Garhammer (1993)). Au-delà, le métabolisme aérobie prend une part prépondérante, pour devenir la source d'énergie pratiquement exclusive après 5 à 10 minutes. Jusqu'à environ 30 minutes, l'exercice est soit de faible puissance et à peu d'effet sur l'équilibre énergétique, soit de puissance élevée et les glucides constituent le principal substrat énergétique utilisé. Donc, c'est surtout dans des efforts de plus de 30 minutes que se pose la question de la contribution des glucides, lipides et protéines à la fourniture de l'énergie. Selon la puissance et la durée de l'exercice mais aussi selon l'état nutritionnel du sujet, l'état d'entraînement et le sexe, les contributions respectives de l'oxydation des protéines, des lipides et du glucose varient.

1.1.1 Oxydation des protéines

Le muscle peut oxyder six acides aminés : les acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine) ainsi que l'asparagine, l'aspartate et le glutamate (Wagenmakers (1998)). Les acides aminés utilisés au cours de l'exercice proviennent à la fois des protéines musculaires (Van Hall et al. (1999)), et des protéines intestinales (Williams et al. (1996)). Le calcul de la contribution de l'oxydation des protéines à la fourniture de l'énergie au cours de l'exercice nécessite la mesure de l'excrétion d'urée dans l'urine et la sueur (Lemon et Mullin (1980)) ou l'utilisation de traceurs isotopiques (Wagenmakers (1999)). Cette contribution est faible (en général ~5-10 % de la dépense énergétique

(DE)) et reste toujours inférieure à la contribution de l'oxydation des protéines à la DE de repos (10 à 20 % selon le régime alimentaire) (Rennie et al. (2006)), et elle est souvent considérée comme négligeable. L'oxydation des protéines au cours de l'exercice n'est pas modifiée par des variations modestes de leur ingestion (0,7 et 1,8 g•kg⁻¹•j⁻¹ pendant 7 jours (Bowtell et al. (2000)). Par contre, elle est réduite à la suite d'un régime riche en glucides qui augmente les réserves de glycogène (Lemon et Mullin (1980)) , et par l'ingestion de glucose (van Hamont et al. (2005)) ou de glucose et de protéines (Koopman et al. (2004)) pendant l'exercice.

1.1.2 Oxydation des glucides

Les contributions respectives de l'oxydation des glucides et des acides gras à la fourniture de l'énergie au cours de l'exercice peuvent être calculées par calorimétrie indirecte respiratoire (McArdle et al. (2001)). La part de l'énergie fournie par l'oxydation des glucides augmente avec la puissance de l'exercice (van Loon et al. (2001); Brooks et Mercier (1994)) et, à puissance constante, elle tend à diminuer avec le temps (Romijn et al. (1993)). Les études conduites par traçage isotopique montrent que le glucose oxydé au niveau musculaire à l'exercice provient, dans des proportions variables des réserves de glycogène musculaire et de la production hépatique de glucose (PHG) (van Loon et al. (2001); Romijn et al. (1993)) (figure 1.1) et, chez le sujet à jeun surtout, de la néoglucogenèse hépatique (Trimmer et al. (2002)).

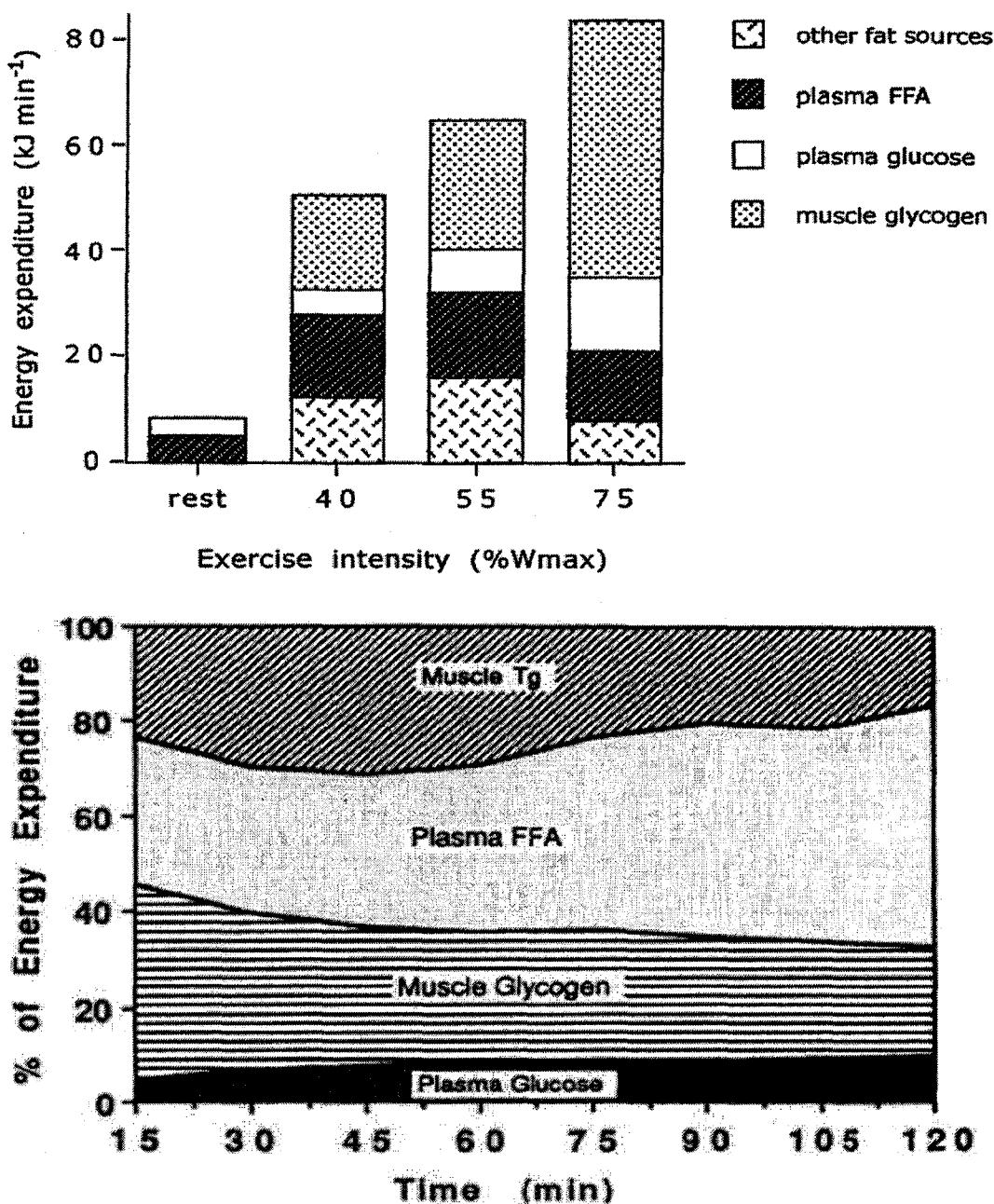


FIGURE 1.1: Utilisation du glycogène musculaire (muscle glycogen), du glucose plasmatique (plasma glucose), des acides gras circulants (plasma FFA), et des triacyglycérols du muscle (muscle Tg, other fat sources) au cours de l'exercice prolongé, en $\text{kJ}\cdot\text{m}$.

Le glucose oxydé peut aussi être fourni par les glucides qui peuvent être ingérés immédiatement avant ou pendant l'exercice, et qui sont rapidement disponibles pour l'oxydation (Jeukendrup et JentJens (2000)). La contribution de l'oxydation du glucose à la fourniture d'énergie augmente à la suite d'un régime alimentaire hypercalorique riche en glucides qui élève les réserves de glycogène musculaire (Jeukendrup (2003)). Elle augmente aussi lorsque des glucides sont ingérés immédiatement avant ou pendant l'exercice et ceci est dû à l'utilisation supplémentaire du glucose exogène (Jeukendrup et Jentjens (2000)). L'oxydation du glucose exogène peut atteindre 1,1 g/min et contribuer jusqu'à 25 % de la DE lors d'un exercice prolongé (Jeukendrup et JentJens (2000)). Par contre, l'effet de la surcharge des réserves de glycogène et de l'ingestion de glucides immédiatement avant ou pendant l'exercice sur l'utilisation des réserves de glycogène, du glucose plasmatique et du glucose libéré par le foie est controversé et dépend sans doute de la puissance et de la durée de l'exercice, du type et de la quantité de glucides ingérés, en plus des caractéristiques des sujets (Arkinstall et al. (2001); Febbraio et al. (2000)).

1.1.3 Oxydation des lipides

En négligeant l'oxydation des protéines, l'oxydation des lipides est l'image miroir de celle des glucides. Les lipides oxydés par le muscle proviennent des triacylglycérols du tissu adipeux, du muscle lui-même et des lipoprotéines de basses densités (Jeukendrup et Gleeson (2005); Kiens (2006)). Les contributions respectives de ces sources, qui varient selon les conditions expérimentales, sont difficiles à évaluer et font aussi l'objet de multiples controverses.

Contrairement aux glucides, dont l'augmentation de la disponibilité améliore la performance dans les exercices prolongés, l'augmentation de la disponibilité des lipides au cours de l'exercice par ingestion de graisses ou par perfusion

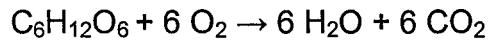
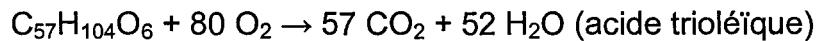
d'émulsion de lipides semble avoir peu d'effet ergogène, même si théoriquement cela devrait augmenter leur utilisation et réduire celle des glucides et du glycogène musculaire (Jeukendrup et Gleeson (2005)).

Contrairement aux glucides ingérés pendant l'exercice qui sont rapidement disponibles et oxydés au cours de l'exercice, les acides gras à longue chaîne (ex : acide palmitique) ingérés sous forme de triacyglycérols immédiatement avant ou pendant l'effort sont peu ou pas oxydés (Satabin et al. (1987)), sans doute parce qu'ils sont absorbés lentement via la circulation lymphatique. Les acides gras à chaîne moyenne (MCT) (ex : acide octanoïque) qui sont absorbés directement dans la circulation portale, sont plus rapidement disponibles pour l'oxydation et peuvent contribuer à la fourniture de l'énergie (Satabin et al. (1987); Jeukendrup et al. (1995)). Van Zyl et al. (1996) ont montré que l'ingestion de 86 g de MCT associés à 200 g de glucose, améliorait la performance en réduisant l'utilisation de glucose total, du glucose exogène et du glycogène musculaire. Toutefois, l'ingestion de MCT est moins tolérée que celle de glucides : la dose de MCT qui peut être ingérée sans inconfort gastrique ou intestinal n'excède pas une trentaine de grammes et leur contribution à la fourniture de l'énergie reste donc plus basse (Jeukendrup et Gleeson (2005)). L'ingestion de petites quantités de MCT, seules ou en association avec du glucose, ne semble pas modifier la performance, ni l'utilisation totale de glucose, de lipides, de glycogène musculaire et de glucose plasmatique (Jeukendrup et Gleeson (2005)).

1.2 TECHNIQUES UTILISÉES POUR ÉTUDIER LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE À L'EXERCICE

1.2.1 Calorimétrie respiratoire indirecte

Le renouvellement des réserves énergétiques dans les cellules musculaires ne peut être mesuré directement. Traditionnellement, la quantification de l'oxydation des substrats a été calculée par calorimétrie indirecte, technique découlant d'équations stœchiométriques. Le métabolisme des lipides et des glucides consomme de l'oxygène (O_2) et produise du dioxyde de carbone (CO_2) et de l'eau. Les équations stœchiométriques de l'oxydation des lipides (triglycérides) et des glucides (glucose) sont les suivantes :



L'oxydation complète d'une mole de triglycéride nécessite 80 moles de O_2 (1792 litres) et produit 57 moles de CO_2 (1276,8 litres) et 52 moles d'eau. L'oxydation complète d'une mole de glucose nécessite 6 moles de O_2 (133,2 litres) et produit 6 moles de CO_2 (133,2 litres) et 6 moles d'eau. Donc, le ratio du CO_2 produit et de l' O_2 consommé permet de déterminer la contribution de chaque substrat à la DE. À partir des volumes respiratoires de consommation d' O_2 (\dot{V}_{O_2}) et de production de CO_2 (\dot{V}_{CO_2}), il est possible d'évaluer les quantités de lipides et de glucides oxydées (Jeukendrup et Wallis (2004)). L'équation stœchiométrique de l'oxydation des lipides varie dépendamment de la longueur des chaînes des acides gras. Étant donné la grande variété des acides gras dans la diète humaine, des différences existent dans la littérature scientifique concernant les équations utilisées en calorimétrie indirecte. Les résultats obtenus via différentes équations utilisées par divers groupes de recherche

variant de ~6% pour les glucides et de ~3% pour les lipides (Jeukendrup et Wallis (2004)). Les équations utilisées par notre groupe de recherche sont reconnues et acceptées par la communauté scientifique (Péronnet et Massicote (1991)) et sont :

$$\text{Glucose (g / min)} = 4,59 \dot{V}_{CO_2} - 3,23 \dot{V}_{O_2}$$

$$\text{Lipide (g/min)} = 1,70 (\dot{V}_{O_2} - \dot{V}_{CO_2})$$

Les protéines n'étant pas complètement oxydées par l'organisme (l'azote n'est pas oxydable), il est impossible à partir de cette technique d'en évaluer la contribution à la fourniture d'énergie. Cependant, un facteur correctif utilisant la quantité d'urée excrétée peut être utilisé afin de tenir compte de l'oxydation des protéines (Péronnet et Massicotte (1991)).

La calorimétrie indirecte assume que le ratio des échanges respiratoires ($\dot{V}_{CO_2}/\dot{V}_{O_2}$) est similaire au quotient respiratoire. C'est-à-dire que la consommation d' O_2 et la production de CO_2 proviennent exclusivement du processus oxydatif et que la composition des gaz expirés reflète les échanges gazeux découlant du métabolisme énergétique tissulaire. Bien que le \dot{V}_{O_2} représente bien la captation cellulaire d' O_2 , le \dot{V}_{CO_2} sera quant à lui une estimation de la production tissulaire de CO_2 influencé par la présence du pool d'ions carbonates. Lors d'un exercice d'intensité faible à modérée aucune accumulation d'ions hydrogène ne survient et la production de lactate est similaire à son utilisation via le processus oxydatif et la néoglucogenèse. Le \dot{V}_{CO_2} représente alors adéquatement la production tissulaire de CO_2 (Jeukendrup et Wallis (2004)).

La principale limite de la calorimétrie respiratoire indirecte est qu'elle ne permet pas de déterminer la provenance endogène des lipides et des glucides oxydés. Effectivement, aucune distinction ne peut être faite entre l'oxydation du glucose provenant de la production hépatique et de la dégradation du glycogène musculaire ou encore celui provenant d'un apport exogène. Pareillement, la distinction entre l'oxydation des lipides provenant des réserves adipeuses et musculaires ou d'un apport exogène ne peut pas être faite à l'aide de la calorimétrie respiratoire indirecte. L'utilisation de marqueurs isotopiques couplée à la calorimétrie respiratoire indirecte permet de préciser la provenance et le cheminement des divers substrats énergétiques.

1.2.2 Traçage isotopique

L'utilisation de marqueurs isotopiques nous permet de quantifier des événements métaboliques *in vivo*. C'est-à-dire que le marqueur isotopique nous permet de suivre, de façon dynamique, le cheminement d'un substrat métabolique. Le marqueur idéal se veut chimiquement identique au substrat mesuré, mais spécifiquement reconnaissable et précisément quantifiable. Un isotope est un élément composé d'atomes chimiquement identiques mais différents par leur masse. Bien que le traçage isotopique puisse s'effectuer avec des isotopes stables ou radioactifs, la nature invasive de ces derniers a proscrit leur utilisation pour les études *in vivo* chez l'humain au Canada. Pour l'étude du métabolisme énergétique, les marqueurs isotopiques sont généralement administrés par injection intraveineuse, à l'exception des études portant sur l'oxydation de substrats exogènes, où dans ce cas, ils sont ingérés. Les isotopes stables les plus utilisés pour les études métaboliques sont : ^{2}H , ^{13}C , ^{15}N et ^{18}O (Wolfe et George (1993)).

1.2.2.1 Traceurs intraveineux

Les traceurs isotopiques stables sont utilisés depuis la fin des années 1970 pour quantifier la cinétique du glucose chez l'humain (Coggan (1999)). Les traceurs administrés lors d'un verrouillage sont une faible quantité d'un substrat marqué. Brièvement, le ratio traceur / tracé permet de calculer le taux d'apparition et de disparition du glucose. Le taux d'apparition du glucose (R_a) se définit comme l'apparition totale dans la circulation sanguine du substrat tracé provenant de l'ensemble de l'organisme. Suite à un jeûne d'une nuit (~10-12 heures), le glucose en circulation provient exclusivement de la production hépatique, soit la contribution de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse. Cependant, en état dynamique, après un repas par exemple, le glucose provient également du tube digestif. Le taux de disparition (R_d) est quant à lui le reflet de la captation cellulaire de glucose. Lors d'une étude métabolique à l'exercice, le R_d est généralement considéré comme étant représentatif de l'oxydation du glucose circulant (Lavoie et al. (1997); Coggan (1999)). En combinant cette technique à la calorimétrie respiratoire indirecte, il est possible de calculer la contribution des glucides à la DE au cours d'un exercice et de différencier la contribution du glucose circulant versus celle du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire. Pour ce faire, il suffit de soustraire la quantité de glucose plasmatique oxydée à la quantité totale de glucide oxydée fournie par la calorimétrie indirecte :

$$\text{Glycogène musculaire oxydé} = \text{Glucides oxydés} - \text{Glucose circulant oxydé}$$

Cependant, cette technique ne permet pas de faire la distinction entre l'utilisation du glucose provenant de la production hépatique et celui provenant du tube digestif.

1.2.2.2 Traceur ingéré

Pour investiguer la réponse métabolique à l'exercice suivant l'ingestion d'un supplément glucidique et quantifier sa contribution à la DE, il est nécessaire d'utiliser un traceur isotopique. L'enrichissement en ^{13}C -glucose d'une solution glucidique permet de faire le suivi de sa cinétique post ingestion (figure 1.2).

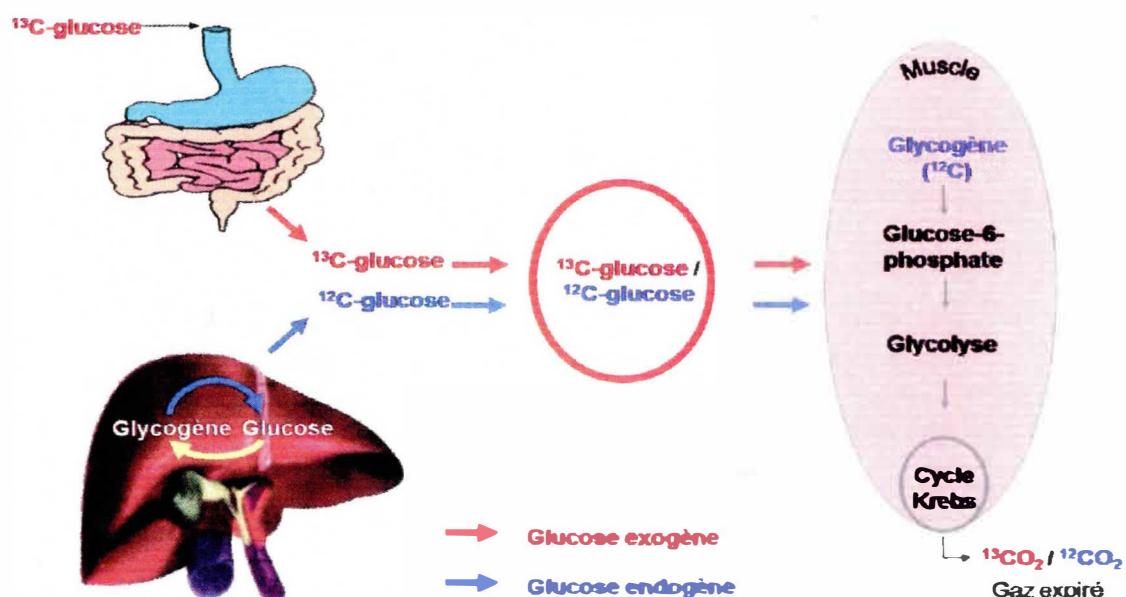


FIGURE 1.2 : Suivi isotopique du métabolisme d'une solution de glucose enrichie en carbone 13.

Brièvement, la composition isotopique du CO_2 expiré (Rexp) est mesurée par spectrométrie de masse. Combiné au V_{CO_2} , Rexp permet de calculer la quantité de glucose exogène oxydé.

$$\text{Glucose exogène (g/min)} = V_{\text{CO}_2} [(R_{\text{exp}} - R_{\text{ref}}) / (R_{\text{exo}} - R_{\text{ref}})] / k$$

R_{ref} représente la composition isotopique du CO_2 expiré avant l'ingestion de la solution de glucose enrichi, R_{exo} représente la composition isotopique de la solution de glucose et k (0,747 L/g) est le volume de CO_2 produit par l'oxydation

complète du glucose. De plus, la détermination de l'enrichissement du glucose plasmatique (^{13}C -glucose/ ^{12}C -glucose) permet de calculer son oxydation. Pour déterminer l'enrichissement du glucose circulant (Rglu), le glucose est d'abord isolé de l'échantillon sanguin puis brûlé, le CO_2 ainsi produit est alors analysé par spectrométrie de masse.

$$\text{Glucose plasmatique (g/min)} = \dot{V}_{\text{CO}_2} [(\text{Rexp-Rref}) / (\text{Rglu-Rref})] / k$$

Pour calculer le glucose oxydé provenant de la production hépatique, il suffit de soustraire la quantité de glucose exogène oxydée à la quantité de glucose plasmatique oxydée

$$\text{PHG oxydé} = \text{Glucose plasmatique oxydé} - \text{Glucose exogène oxydé}$$

La quantité totale de glucides oxydée fournie par la calorimétrie indirecte permet de calculer la quantité de glucose oxydé provenant de la dégradation du glycogène musculaire.

$$\text{Glycogène musculaire oxydé} = \text{Glucides oxydés} - \text{Glucose circulant oxydé}$$

Donc, la calorimétrie respiratoire indirecte couplée à cette technique de traçage isotopique permet de calculer la quantité totale de glucides et de lipides oxydées, ainsi que la contribution de chacune des différentes sources de glucose (exogène, PHG et glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire) (Péronnet et Massicotte (1990); Péronnet et al. (1998); Couture et al. (2002)).

1.3 DIABÈTE DE TYPE 1 ET MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE À L'EXERCICE

1.3.1 Diabète de type 1 et exercice

Le diabète de type 1 est une affection auto-immune caractérisée par une insulinopénie résultat d'une destruction des cellules insulino-sécrétrices bêta des îlots pancréatiques. Comme la pathophysiologie de cette maladie est un manque d'insuline, le traitement de cette maladie repose sur l'injection d'insuline, généralement plusieurs fois par jour. Les patients atteints de diabète de type 1 représentent environ 5-10% de la population diabétique, la majorité étant principalement les patients atteints de diabète de type 2. Brièvement, le diabète de type 2 est quant à lui une pathophysiologie caractérisée par une altération de la sécrétion d'insuline et/ou une résistance périphérique à l'action de l'insuline ou encore une combinaison des deux. Le diabète de type 2 n'est pas une affection auto-immune, mais plutôt une conséquence des facteurs héréditaires et d'une surcharge pondérale (Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert Committee (2003)).

L'insuline est une hormone cruciale au maintien de l'homéostasie glucidique. L'insuline évite une élévation supra physiologique de la glycémie : au-delà de 5 mmol/l en période de jeûne et 10 mmol/l en période post-prandiale. Une hyperglycémie chronique entraîne des complications micro et macro vasculaires telles que les rétinopathies, les néphropathies et les neuropathies, les maladies cardiaques athérosclérotiques et les accidents cérébro-vasculaires; ces complications augmentent la morbidité et la mortalité.

Chez les sujets sains, les concentrations plasmatiques d'insuline varient en fonction de la glycémie et de l'exercice. Suite à l'ingestion de glucose, l'élévation de la glycémie se traduit par une augmentation de l'insulinémie; lors d'une période d'exercice, l'augmentation des catécholamines via la stimulation des

voies adrénnergiques, diminue la sécrétion d'insuline (figure 1.3). L'augmentation de l'insuline permet une diminution de la glycémie, d'une part, en ordonnant aux cellules de nombreux tissus, dont les cellules musculaires, d'absorber le glucose sanguin et d'autre part, en favorisant le ralentissement de la dégradation du glycogène hépatique. La diminution de l'insuline stimule la libération hépatique de glucose, donc une élévation de la glycémie (Flakoll et al. (2000))

Comme les études épidémiologiques (Moy et al. (1993); Wei et al. (2000)) démontrent une diminution des complications diabétiques avec un suivi serré de la glycémie, l'insulinothérapie des patients atteints de diabète de type 1 vise à reproduire le schème insulino-sécrétoire physiologique. C'est pourquoi les nouvelles modalités thérapeutiques favorisent l'insulinothérapie intensive : 1 dose d'insuline à longue action lors du coucher ou 2 doses d'insuline à action intermédiaire (au coucher et au lever) et 3 doses d'insuline à action rapide modulées par la glycémie pré prandiale et la quantité de glucides ingérée. De plus, l'exercice physique perturbant l'homéostasie glucidique, les patients diabétiques de type 1 doivent ajuster leurs doses d'insuline en fonction des activités physiques qu'ils entrevoient effectuer. Cependant, une fois administrée, l'insuline exogène ne peut plus être modulée et sa concentration ne diminue que selon son élimination physiologique (figure 1.3). Malgré tout, le contrôle effectué n'est pas parfait et engendre un dérèglement métabolique mis en évidence, entre autre, lors d'une période d'exercice se traduisant par une hypoglycémie ou une hyperglycémie.

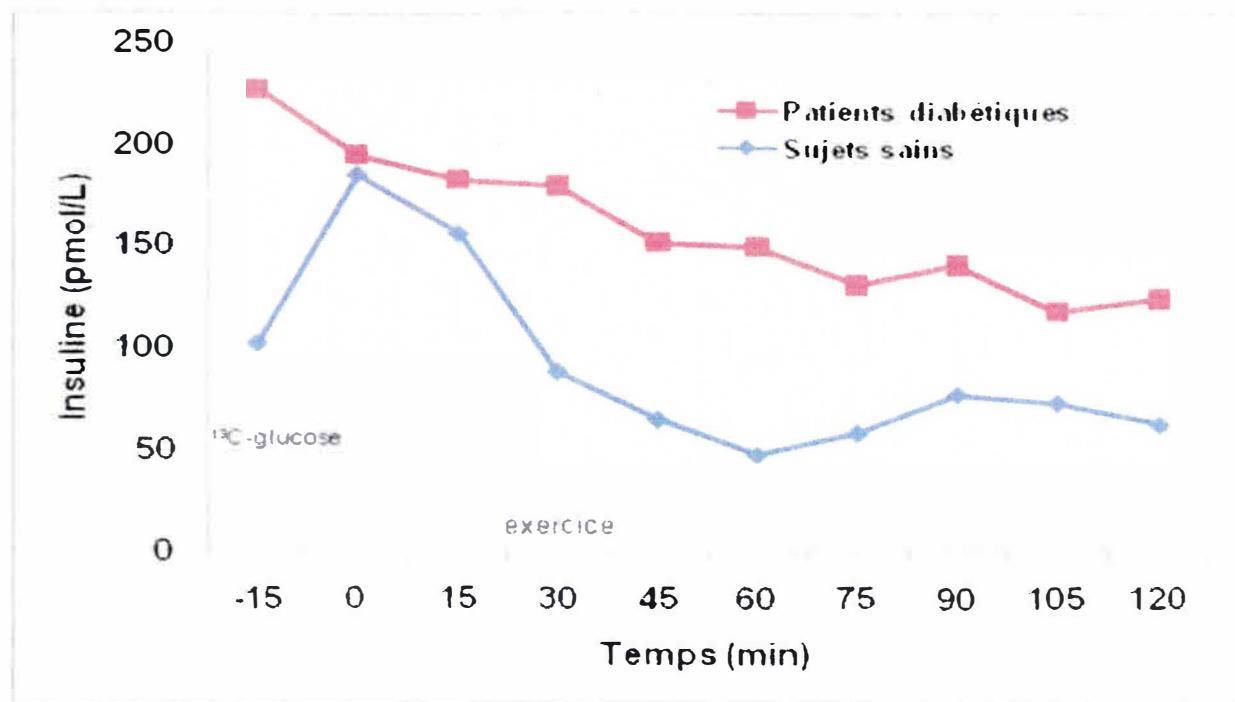


FIGURE 1.3 : Variation de la concentration d'insuline plasmatique chez les sujets sains et les patients diabétiques à l'exercice 15 minutes suivant l'ingestion de glucose. Adaptée de Robitaille et al. (2007).

La concentration d'insuline chez le patient diabétique de type 1 est donc fonction de la dose d'insuline exogène. La pratique d'exercice chez les patients diabétiques entraîne fréquemment l'hypoglycémie puisque la concentration d'insuline injectée au préalable ne diminue pas. De plus, si le moment de pratique coïncide avec le pic d'action de l'insuline utilisée, les risques d'hypoglycémie sont plus grands. Ces 2 situations causent à l'exercice une situation où les concentrations d'insuline sont plus grandes que les besoins réels (Wasserman et Zinman (1994); Horton (2000)). En présence d'un excès d'insuline, il se produit une inhibition de l'augmentation de la production hépatique de glucose, normalement rencontrée à l'exercice. À l'exercice, l'utilisation de glucose par les muscles squelettiques augmente. Le déséquilibre entre la production de glucose inférieure à l'utilisation de glucose par les muscles fait chuter la glycémie et apparaître l'hypoglycémie. Une activité physique d'intensité modérée d'une durée supérieure à 30 minutes, diminue

dans la majorité des cas la glycémie, et implique un potentiel immédiat et sérieux d'hypoglycémie (Nathan et al. (1985); Dubé et al. (2005)).

Les hypoglycémies constituent les risques et les craintes les plus répandus chez les patients diabétiques de type 1. De façon générale, La glycémie initiale, le niveau d'insuline, la durée, l'intensité et le moment de l'activité physique sont des facteurs qui modulent la réponse de l'exercice sur la glycémie. Actuellement, deux mesures demeurent pour contrer les hypoglycémies induites par l'exercice, soient la réduction de l'insuline et/ou l'augmentation de l'apport glucidique. Par contre, il n'existe pas encore de consensus universel précis permettant de compenser l'un ou l'autre sans que chaque patient ait fait quelques essais et erreurs. Brièvement, la règle suggère 15-25 g de glucides / 30 minutes d'activité physique pour maintenir une glycémie sécuritaire (Nathan et al. (1985); Dubé et al. (2005)). Pour les changements d'insuline, les réductions des doses varieront selon la durée de l'activité physique et le type d'insuline utilisé. Malgré tout, la solution optimale pour contrer les hypoglycémies sera propre à chaque patient atteint de diabète de type 1.

1.3.2 Contribution des lipides et des glucides à la DE lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez les patients diabétiques de type 1

Comme mentionné précédemment, les glucides et les lipides constituent les principaux substrats oxydables par les cellules musculaires. La contribution relative des lipides et des glucides à la DE varie énormément et dépend fortement de la puissance et de la durée de l'exercice, de la diète, et des caractéristiques des sujets. L'ingestion d'un supplément glucidique et la modulation des doses d'insuline sont des stratégies adoptées par les patients diabétiques pour contrer les hypoglycémies induites par l'exercice (Sane et al. (1988); Horton (2000)). Cependant, peu d'études dans la littérature scientifique

ont évalué l'influence de l'insuline ou d'un supplément glucidique sur le métabolisme énergétique à l'exercice chez les patients diabétiques (Wahren et al. (1975); Murray et al. (1977); Krzentowski et al. (1981); Raguso et al. (1995); Ramires et al. (1997); Riddell et al. (2000); Francescato et al. (2004)) (tableau 1.1).

TABLEAU 1.1
Effet de l'insuline et d'un supplément de glucose sur la contribution des lipides et des glucides à l'exercice

Études	Exercice durée : intensité (% VO ₂ max)	Insuline (patients diabétiques)	Glucose (préexercice)	Contribution des lipides et des glucides, effet du diabète (db) de type 1
Wahren et al., 1975	40 min : 55-60 %	Aucune (24 h)	Aucun	Lipides _{db} > Lipides _{sains} Glucides _{db} < Glucides _{sains}
Ramires et al., 1997	Épuisement : 55-60%	Aucune (12 h)	Aucun Oral (1g/kg, dextrosol), 30 min avant l'exercice	Lipides _{db} > Lipides _{sains} Glucides _{db} < Glucides _{sains} Lipides _{db} > Lipides _{sains}
Raguso et al., 1995	30 min : 45% 30 min : 75%	Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	Aucun	Lipides _{db} > Lipides _{sains} Glucides _{db} = Glucides _{sains} Lipides _{db} = Lipides _{sains} Glucides _{db} = Glucides _{sains}
Murray et al., 1977	45 min : 50%	1/3 dose quotidienne (1 h avant exercice) Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	Aucun	Lipides _{db} = Lipides _{sains} Glucides _{db} = Glucides _{sains} Lipides _{db} = Lipides _{sains} Glucides _{db} = Glucides _{sains}
Riddell et al., 2000	60 min : 60%	Dose usuelle (1,5 h avant exercice)	Aucun Solution entre 52-127 g de glucose, répartie avant et	Lipides _{db} = Lipides _{sains} Glucides _{db} = Glucides _{sains} Lipides _{db} = Lipides _{sains}

			pendant l'exercice	$\text{Glucides}_{\text{db}} = \text{Glucides}_{\text{sains}}$
Études	Exercice durée : intensité (% VO ₂ max)	Insuline (patients diabétiques)	Glucose (préexercice)	Contribution des lipides et des glucides, effet du diabète (db) de type 1
Krzentowski et al., 1981	4 h : 40-50%	Intraveineuse arrêtée 15 min avant l'exercice Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	Solution 100 g glucose, 15 min après le début de l'exercice	$\text{Lipides}_{\text{db}} > \text{Lipides}_{\text{sains}}$ $\text{Glucides}_{\text{db}} < \text{Glucides}_{\text{sains}}$ $\text{Lipides}_{\text{db}} = \text{Lipides}_{\text{sains}}$ $\text{Glucides}_{\text{db}} = \text{Glucides}_{\text{sains}}$
Francescato et al., 2004	60 min : 50%	Dose usuelle (0,1 IU/kg poids corporal)	0,7 g/kg 0,5 g/kg 0,2 g/kg 0,1 g/kg (30 minutes avant le début de l'exercice, patients diabétiques uniquement)	$\text{Lipides}_{\text{db}} = \text{Lipides}_{\text{sains}}$ $\text{Glucides}_{\text{db}} = \text{Glucides}_{\text{sains}}$ $\text{Lipides}_{\text{db}} = \text{Lipides}_{\text{sains}}$ $\text{Glucides}_{\text{db}} = \text{Glucides}_{\text{sains}}$ $\text{Lipides}_{\text{db}} = \text{Lipides}_{\text{sains}}$ $\text{Glucides}_{\text{db}} > \text{Glucides}_{\text{sains}}$ $\text{Lipides}_{\text{db}} = \text{Lipides}_{\text{sains}}$ $\text{Glucides}_{\text{db}} = \text{Glucides}_{\text{sains}}$

Les études menées par Wahren et al. (1975) et Ramires et al. (1997) ont montré, chez les patients diabétiques ne recevant ni insuline (depuis 12-24 heures) et ni supplément glucidique, une contribution supérieure des lipides et inférieure des glucides à la DE comparativement aux sujets sains lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée (55-60 % $\dot{V}O_{2\max}$). Lors de la même étude, lorsqu'une solution de glucose (1 g/kg) était ingérée 30 minutes avant l'exercice, Ramires et al. (1997) ont montré une augmentation de la contribution des glucides tant chez les patients diabétiques que chez les sujets sains. Cependant, la contribution des lipides à la DE des patients diabétiques est demeurée supérieure et celle des glucides inférieure à celle des sujets sains. Lors d'un exercice de 30 min à 45 % du $\dot{V}O_{2\max}$, chez les patients diabétiques recevant une infusion d'insuline permettant de maintenir l'euglycémie (~ 5,5 mmol/L) de repos et aucun supplément glucidique, Raguso et al. (1995) ont montré une contribution des lipides à la DE supérieure à celle des sujets sains. Cependant, lors du même protocole expérimental, mais à une intensité de 75 % du $\dot{V}O_{2\max}$, aucune différence n'a été observée en ce qui concerne la contribution des lipides et des glucides à la DE entre les patients diabétiques et les sujets sains. Murray et al. (1977) ont obtenu des résultats similaires lorsque de l'insuline est infusé et lorsque 1/3 de la dose quotidienne est injectée 1 heure avant une période d'exercice de 45 minutes à 50 % $\dot{V}O_{2\max}$ sans supplément glucidique. Lors d'un exercice de 60 min à 60% du $\dot{V}O_{2\max}$, 1,5 heures suivant l'injection usuelle d'insuline, Riddell et al. (2000) ont montré que la contribution des lipides et des glucides à la DE chez les patients diabétiques et les sujets sains sont similaires avec un supplément (52-127 g glucose en solution) ou sans supplément glucidique. Les résultats de Riddell et al. (2000) sont similaires à Ramires et al. (1997), le supplément glucidique ayant provoqué une augmentation de la contribution des glucides tant chez les patients diabétiques que chez les sujets sains. Krzentowski et al. (1981) ont comparé le métabolisme énergétique lors d'un exercice de 4 heures à 50% du $\dot{V}O_{2\max}$ des patients

diabétiques et des sujets sains. Une infusion d'insuline maintenait l'euglycémie de repos des patients diabétiques et fut, soit continuée pendant ou arrêtée avant l'exercice. Une solution de glucose (100 g) fut ingérée 15 minutes après le début de l'exercice. Cette étude a montré une contribution supérieure des lipides à la DE des patients diabétiques sans insuline comparativement aux sujets sains et aux patients diabétiques recevant une infusion basale d'insuline. Cependant, la contribution des lipides et des glucides à la DE fut similaire chez les patients diabétiques recevant une infusion d'insuline et chez les sujets sains. Francescato et al. (2004) ont quant à eux évalué le métabolisme énergétique durant un exercice de 60 minutes à 50% du $\dot{V}O_2\text{max}$, chez des patients diabétiques recevant leur dose habituelle d'insuline : 4 protocoles ont été réalisés à différents temps suivant l'injection d'insuline combinée à une ingestion d'une quantité de glucides inversement proportionnel au temps écoulé depuis l'injection d'insuline (tableau 1.1). Il est à noter que les sujets sains ne recevaient aucun supplément de glucides pré exercice. La contribution des lipides et des glucides à la DE fut similaire entre les patients diabétiques et les sujets sains pour 3 des 4 protocoles. Lors du protocole 3, la contribution des glucides à la DE fut supérieure chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. Cependant, selon les auteurs, la différence peut être expliquée par le fait que les patients diabétiques pouvaient, en plus de l'ingestion des glucides pré exercice, consommer une collation contenant des glucides peu de temps avant le déroulement du 3^{ème} protocole. Dans cette étude, une comparaison entre les patients diabétiques et les sujets sains peut difficilement avoir lieu, étant donné que les sujets sains ne recevaient aucun supplément glucidique.

En résumé, la littérature scientifique supporte que : lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez des patients diabétiques ne recevant pas d'insuline, la contribution des lipides et des glucides à la DE est, respectivement supérieure et inférieure à celle des sujets sains, qu'il y ait ou non un supplément glucidique (Wahren et al. (1975); Ramires et al. (1997). Cependant, lors d'un exercice

prolongé d'intensité modérée chez des patients diabétiques recevant de l'insuline, la contribution des lipides et des glucides à la DE est similaire à celle des sujets sains, qu'il y ait ou non un supplément glucidique (Murray et al. (1977); Krzentowski et al. (1981); Raguso et al. (1995); Ramires et al. (1997); Riddell et al. (2000); Francescato et al. (2004)).

1.3.3 Contribution des glucides à la DE lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez les patients diabétiques de type 1

1.3.3.1 Glucose circulant

Pour déterminer l'utilisation du glucose circulant lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée, il est nécessaire d'utiliser une technique utilisant des traceurs isotopiques. Bien que peu nombreux, quelques groupes de recherche ont utilisé des traceurs infusés pour comparer le taux de disparition du glucose (réflétant l'utilisation du glucose circulant) entre les sujets sains et les patients diabétiques recevant de l'insuline lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée (Zinman et al. (1977); Simonson et al. (1984); Shilo et al. (1990); Raguso et al. (1995)) (tableau 1.2). Aucune de ces études n'impliquaient l'ingestion de glucose pré ou per exercice.

Lors d'un exercice de 40 minutes à 50% $\dot{V}O_{2\max}$, Zinman et al. (1977) ont observé un taux de disparition du glucose similaire chez les sujets sains et les patients diabétiques recevant une infusion d'insuline. Cependant, chez les patients diabétiques recevant l'insuline par injection, le taux de disparition du glucose fut supérieur à celui des deux groupes précédents. Quant à eux, Simonson et al. (1984) et Shilo et al. (1990) ont montré que le taux de disparition du glucose était similaire entre les sujets sains et les patients diabétiques recevant une infusion d'insuline, lors d'un exercice de 30-40 minutes à 40% $\dot{V}O_{2\max}$. Comparativement aux sujets sains, Raguso et al.

(1995) ont obtenu un taux de disparition du glucose inférieur chez les patients diabétiques recevant une infusion d'insuline lors d'un exercice de 30 min à 45 % du $\dot{V}O_{2\text{max}}$. Aucune différence entre les groupes n'est survenue lorsque l'intensité fut à 75 % du $\dot{V}O_{2\text{max}}$.

Peu d'études ont comparé le taux de disparition du glucose des sujets sains et des patients diabétiques et les résultats présentés ne font pas l'unanimité. Le taux de disparition du glucose chez les patients diabétiques est soit inférieur, similaire ou supérieur à celui des sujets sains selon l'insulinémie au moment de l'exercice.

TABLEAU 1.2
Taux de disparition du glucose à l'exercice

Études	Exercice durée : intensité (% : $\dot{V}O_2^{\max}$)	Insuline (patients diabétiques)	Taux de disparition du glucose (Rd), effet du diabète de type 1 (db)
Zinman et al., 1977	45 min : 50%	1/3 dose quotidienne (1 h avant exercice)	$Rd_{db} > Rd_{sains}$
		Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	$Rd_{db} = Rd_{sains}$
Simonson et al., 1984	40 min : 40%	Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	$Rd_{db} = Rd_{sains}$
Shilo et al., 1990	30 min : 40%	Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	$Rd_{db} = Rd_{sains}$
Raguso et al., 1995	30 min : 45%	Intraveineuse pour maintenir euglycémie de repos	$Rd_{db} < Rd_{sains}$
	30 min : 75%		$Rd_{db} = Rd_{sains}$

1.3.3.2 Glycogène musculaire

Plusieurs techniques (biopsies musculaires, traçage isotopique, résonance magnétique) permettent de quantifier l'utilisation du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée. Cependant, à notre connaissance, seulement 2 études ont quantifié l'utilisation du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire entre les sujets sains et les patients diabétiques recevant de l'insuline lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée (Standl et al. (1980); Raguso et al. (1995)).

Standl et al. (1980) ont effectué des biopsies musculaires avant et après un exercice ergométrique de 60 minutes à 50-60% du $\dot{V}O_{2\text{max}}$ chez des sujets sains et des patients diabétiques recevant 80-90% de leur dose usuelle d'insuline ou sans insuline depuis 24 heures. Les concentrations de glycogène musculaire avant et après l'exercice furent similaires chez les sujets sains et les patients diabétiques recevant de l'insuline. Chez les patients diabétiques sans insuline depuis 24 heures, la quantité initiale était inférieure à celle des deux groupes précédents et la quantité finale fut similaire. Donc, l'utilisation du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire fut similaire entre les sujets sains et les patients diabétiques recevant de l'insuline, mais inférieur chez les patients ne recevant aucune insuline. Raguso et al. (1995) ont calculé que l'utilisation du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire lors d'une période d'exercice était similaire entre les sujets sains et les patients diabétiques recevant une infusion d'insuline. Ces observations furent observées tant pour un exercice à 45% qu'à 75% du $\dot{V}O_{2\text{max}}$. Les données présentées suggèrent que l'utilisation du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire soit similaire chez les sujets sains et les patients diabétiques recevant de l'insuline.

1.3.3.3 Glucose exogène

L'ingestion d'un supplément glucidique est un élément essentiel dans la prévention des hypoglycémies induites par l'exercice chez les patients diabétiques (Nathan et al. (1985); Dubé et al. (2005)). À notre connaissance, uniquement deux groupes de recherche ont comparé l'oxydation d'un supplément glucidique ingéré avant ou pendant l'exercice entre des sujets sains et des patients diabétiques (Krzentowski et al. (1981); Riddell et al. (2000)).

Krzentowski et al. (1981) ont utilisé du glucose naturellement enrichi en carbone 13 pour étudier l'oxydation du glucose exogène lors d'une période d'exercice de 4 heures à 40-50% du $\dot{V}O_{2\text{max}}$ chez des patients diabétiques et des sujets sains. Un groupe de patients diabétiques ne recevait aucune insuline et un groupe recevait une infusion d'insuline (dose permettant de maintenir l'euglycémie de repos). Une solution de glucose (100 g) fut ingérée 15 minutes après le début de l'exercice. Les auteurs ont observé une contribution similaire du glucose exogène à la DE entre le groupe de patients diabétiques recevant de l'insuline et le groupe contrôle, ainsi qu'une quantité totale similaire de glucose exogène oxydé. La contribution du glucose exogène à la DE et la quantité totale oxydée chez les patients diabétiques ne recevant pas d'insuline furent significativement inférieures à celles des patients diabétiques recevant de l'insuline ainsi qu'à celles des sujets sains. Néanmoins, pour l'ensemble des groupes (sujets sains, patients diabétiques avec et sans insuline), la contribution du glucose endogène (PHG + glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire) fut similaire. L'absence d'insuline chez les patients diabétiques a provoqué une diminution de la captation et de l'oxydation du glucose exogène par les cellules musculaires. Cependant, en début d'exercice (jusqu'à la 75^{ème} minute) l'oxydation du glucose exogène chez les patients diabétiques recevant de l'insuline était inférieure à celle des sujets sains (figure 1.4).

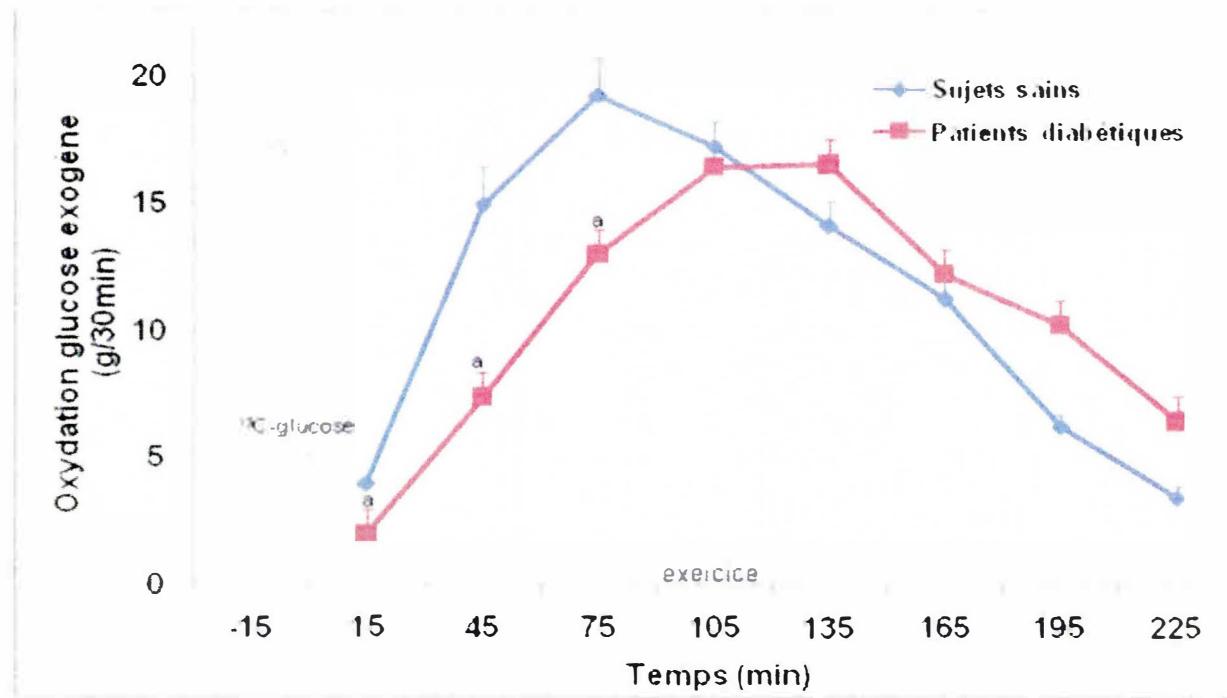


FIGURE 1.4 Oxydation du glucose exogène chez les sujets sains et chez les patients diabétiques recevant de l'insuline. Différence significative entre les groupes (a). Adaptée de Krzentowski et al. (1981).

Riddell et al. (2000) ont utilisé du glucose enrichi artificiellement (^{13}C -glucose) pour évaluer le métabolisme énergétique lors d'un exercice de 60 minutes à 60% du $\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{max}}$ avec ingestion de glucose. Les patients diabétiques recevaient leur dose habituelle d'insuline et le glucose était ingéré en bolus avant et pendant l'exercice. La quantité de glucose ingéré (52-127 g glucose en solution) correspondait à la quantité de glucides oxydés propre à chaque sujet déterminée lors d'une période d'exercice similaire sans ingestion de glucose. Les concentrations plasmatiques d'insuline et de glucose furent supérieures chez les patients diabétiques pour l'ensemble de la période d'exercice. Néanmoins, les auteurs ont observé une contribution du glucose exogène à la DE inférieure chez le groupe de patients diabétiques comparativement au groupe contrôle. Cependant, les quantités totales de glucose exogène oxydé suite aux 60 minutes d'exercice furent similaires (figure 1.5). Lorsque les 30

dernières minutes de l'exercice sont analysées de façon indépendantes, aucune différence significative n'est observée ni au niveau de la contribution du glucose exogène à la DE ni au niveau des quantités totales oxydées. La contribution du glucose endogène à la DE fut similaire entre les groupes lors des 60 minutes de la période d'exercice.

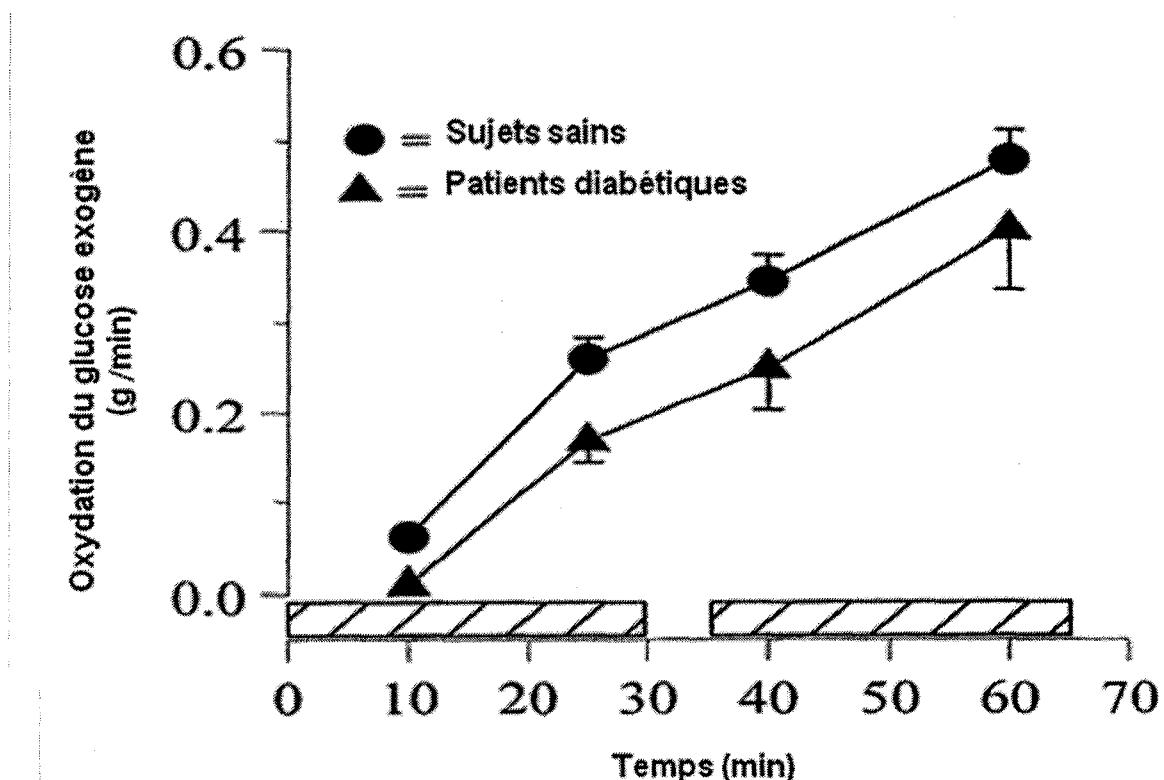


FIGURE 1.5 : Oxydation du glucose exogène chez les sujets sains et chez les patients diabétiques lors de deux périodes successives d'exercice (0-30 et 35-65 minutes). Adaptée de Riddell et al. (2000).

Il est à noter que Riddell et al. (2000) ont calculé l'oxydation du glucose exogène sur l'entièvre période d'exercice. Cependant, le système tampon bicarbonate du plasma sanguin permettant de maintenir le pH sanguin dans une zone vitale affecte l'expulsion du CO_2 dissous provenant du métabolisme cellulaire. L'expulsion du $^{13}\text{CO}_2$ produit par l'oxydation du glucose exogène peut

être retardée. Une période d'équilibration de 30 minutes d'exercice et généralement respectée avant de calculer l'oxydation du glucose exogène lors d'études utilisant un marqueur isotopique ingéré (Pallikarakis et al. (1991)).

En soutenant l'hypothèse que le délai entre la production du $^{13}\text{CO}_2$ produit par l'oxydation du glucose exogène et son expulsion est similaire chez les patients diabétiques et les sujets sains, Riddell et al. (2000) ont obtenu une différence significative de la contribution du glucose exogène à la DE lors des 60 minutes d'exercice. Les données de Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000) suggèrent un retard dans l'oxydation du glucose exogène chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. Cependant, lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée, la quantité de glucose exogène oxydé et sa contribution à la DE sont similaires entre les patients diabétiques recevant de l'insuline et les sujets sains.

Les techniques utilisées lors de l'étude de Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000) ne permettaient pas de différencier la provenance du glucose endogène : PHG versus dégradation du glycogène musculaire.

1.4 PROBLÉMATIQUE

L'utilisation de collation glucidique pour contrer les hypoglycémies induites par l'exercice est un moyen privilégié chez les patients diabétiques de type 1 (Nathan et al. (1985); Dubé et al. (2005)). Cependant, outre les études par Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000), aucune donnée détaillée n'est disponible sur l'effet du diabète de type 1 sur les flux métaboliques lors d'une période d'exercice d'intensité modérée suivant l'ingestion d'une solution de glucose.

La technique permettant la mesure de l'enrichissement du glucose plasmatique utilisée par notre groupe de recherche permet de calculer la contribution relative des diverses sources de glucose : exogène, plasmatique, hépatique et musculaire. Donc, nous sommes en mesure de calculer, en plus de l'utilisation du glucose exogène et endogène (comme dans l'étude de Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000)), l'utilisation du glucose provenant de la PHG et de la dégradation du glycogène musculaire : données absentes de la littérature scientifique lorsqu'il y a ingestion d'un supplément glucidique. L'objectif de ce projet de maîtrise est de comparer aux sujets sains les flux du métabolisme énergétique à l'exercice suivant l'ingestion de glucose des patients atteints de diabète de type 1 sans modification de leurs doses usuelles d'insuline. Spécifiquement, nous voulons calculer et comparer les contributions relatives des lipides et des diverses sources de glucose utilisées lors d'une période d'exercice de 60 minutes à 50% du $\dot{V}O_{2\max}$ chez les patients diabétiques et les sujets sains.

Basé sur les résultats de Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000), l'hypothèse de ce projet est que la contribution des lipides et des glucides à la DE sera similaire entre les groupes tout comme la quantité de glucose exogène oxydé. Basé sur les résultats de Raguso et al. (1995), nous émettons l'hypothèse que l'utilisation du glucose provenant de la production hépatique sera inférieure chez nos patients diabétiques comparés à nos sujets sains et ce au profit d'une utilisation accrue du glucose provenant de la dégradation du glycogène musculaire

CHAPITRE 2

SUBSTRATE OXIDATION DURING MODERATE EXERCISE WITH ^{13}C - GLUCOSE INGESTION IN TYPE 1 DIABETIC PATIENTS

Soumis le 31 décembre 2006

et accepté le 11 avril 2007

à la revue

Journal of Applied Physiology

2.1 RÉSUMÉ EN FRANÇAIS

L'oxydation et la contribution respective du glucose exogène, du glucose produit par le foie et de la dégradation du glycogène musculaire furent mesurées par calorimétrie indirecte couplée à une technique de traçage isotopique. Huit sujets sains et huit patients diabétiques appariés pour l'âge, la taille, l'indice de masse corporelle et le $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ ont participé à cette étude. Ils ont effectué une période d'exercice de 60 minutes à 50 % $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ suivant l'ingestion d'un déjeuner (contenant ~80 g de glucides) 3 heures avant et d'une solution de 30 g de glucose 15 minutes avant le début de l'exercice. Les patients diabétiques ont reçu leur dose usuelle d'insuline (Humalog® = 9.1 ± 2.6 U; Humulin N® = 13.9 ± 4.4 U) précédant le déjeuner. Durant les 30 dernières minutes de la période d'exercice, l'oxydation des glucides (1.32 ± 0.17 et 1.42 ± 0.22 g/min) et des lipides (0.33 ± 0.04 et 0.30 ± 0.03 g/min) ainsi que leur contribution à la dépense énergétique furent similaires entre les sujets sains et les patients diabétiques. L'oxydation du glucose exogène fut similaire entre les groupes (6.7 ± 0.5 et 5.1 ± 1.2 g/30 min, sujets sains et patients diabétiques, respectivement). L'oxydation du glucose circulant et du glucose produit par le foie fut significativement inférieure chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains (14.5 ± 1.7 ; 9.4 ± 1.2 vs 31.5 ± 4.6 ; 20.9 ± 2.8 g/30 min, respectivement), tandis que celle provenant de la dégradation du glycogène musculaire fut significativement supérieure (30.9 ± 5.7 vs 10.6 ± 2.6 g/30 min, sujets sains et patients diabétiques, respectivement). Lorsque comparé aux sujets sains, ces données indiquent que les patients diabétiques ayant ingérés du glucose avant l'exercice oxydent de façon similaire les glucides et les lipides ainsi que le glucose exogène. Néanmoins, une oxydation inférieure de glucose circulant associée à une utilisation accrue du glycogène musculaire s'observent à l'exercice chez les patients diabétiques.

Substrate source utilisation during moderate intensity exercise with glucose ingestion in type 1 diabetic patients

M. Robitaille¹, M-C. Dubé², S. J. Weisnagel², D. Prud'homme², D. Massicotte⁴, F. Péronnet³ and C. Lavoie¹

¹Département de chimie-biologie et des sciences de l'activité physique, UQTR, Trois-Rivières, Québec, Canada, G9A 5H7

²Division de kinésiologie et Unité de recherche en diabète, Université Laval, Québec, Canada, G1K 7P4,

³Département de kinésiologie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7

⁴Département de kinanthropologie, UQAM, Montréal, Québec, Canada, H3C 3P8

Running title: Substrate oxidation during exercise in type 1 diabetes

Address for correspondence:

Carole Lavoie Ph.D.

Département des sciences de l'activité physique

Université du Québec à Trois-Rivières

Case postale 500, Trois-Rivières (Québec)

Canada G9A 5H7

Tel: (819) 376-5011 #3767 - Fax: (819) 376-5092

Email: Carole.Lavoie@uqtr.ca

2.2 ABSTRACT

Substrate oxidation and the respective contributions of exogenous glucose, glucose released from the liver and muscle glycogen oxidation were measured using indirect respiratory calorimetry combined with tracer technique in eight control subjects and eight diabetic patients (5 men and 3 women in both groups) of similar age, height, body mass, and $\dot{V}O_{2\text{max}}$, over a 60-min exercise period on cycle ergometer at 50.8 (4.0) % $\dot{V}O_{2\text{max}}$ (mean [SD]) (131.0 [38.2] W). Both the subjects and patients ingested a breakfast (containing ~80 g of carbohydrates) 3 hours before and 30 g of glucose labeled with ^{13}C , 15 min before the beginning of exercise. The diabetic patients also received their usual insulin dose (Humalog® = 9.1 [0.9] U; Humulin N® = 13.9 [4.4] U) immediately before the breakfast. Over the last 30 min of exercise the oxidation of carbohydrate (1.32 [0.48] and 1.42 [0.63] g/min) and fat (0.33 [0.10] and 0.30 [0.10] g/min) and their contribution to the energy yield were not significantly different in the control subjects and diabetic patients. Exogenous glucose oxidation was also not significantly different in the control subjects and diabetic patients (6.3 [1.3] and 5.2 [1.6] g/30 min, respectively). In contrast, the oxidation of plasma glucose and of glucose released from the liver was significantly lower in the diabetic patients than in control subjects (14.5 [4.3]; 9.3 [2.8] vs 27.9 [13.3]; 21.6 [12.8] g/30 min, respectively) while that of muscle glycogen was significantly higher (28.1 [15.5] vs 11.6 [8.1] g/30 min). These data indicate that when compared to control subjects, in diabetic patients fed glucose before exercise, overall substrate oxidation and exogenous glucose oxidation are similar but plasma glucose oxidation is lower and this is associated with a compensatory higher utilisation of muscle glycogen.

Key words: Indirect respiratory calorimetry, carbon isotopes, insulin, muscle glycogen, plasma glucose oxidation

2.3 INTRODUCTION

Ingestion of carbohydrates (CHO) immediately before exercise is advocated in patients with type 1 diabetes in order to avoid hypoglycemia during and/or following exercise (8, 15). There is however a paucity of data on the effect of CHO ingestion on substrate oxidation during moderate exercise in diabetic patients (7, 11, 22-24) and only two studies have compared the oxidation rate of exogenous glucose during exercise in diabetic patients and control subjects (11, 24). In both studies, when compared to the observation in the control subjects, exogenous glucose oxidation was not significantly different in diabetic patients over four hours of exercise at ~45 % $\dot{V}O_{2\max}$ (11) or 60 min of exercise at ~60 % $\dot{V}O_{2\max}$ (24). However, the oxidation of exogenous glucose was delayed in the diabetic patients, and in the study by Riddell et al. (24), the contribution of exogenous glucose oxidation to the energy yield was significantly lower in the diabetic patients than in control subjects (9 vs 12 %).

In the present study, substrate oxidation during a 60-min exercise period at 50% $\dot{V}O_{2\max}$ following ingestion of 30 g of glucose was compared in diabetic patients receiving their usual insulin dose and in control subjects. The glucose ingested was artificially labeled with ^{13}C in order to compute the oxidation of exogenous glucose, plasma glucose, glucose released from the liver, and muscle glycogen from calorimetry data and $^{13}\text{CO}_2$ production at the mouth, and from the ^{13}C enrichment of plasma glucose (3, 5, 6, 9, 20). Based on data from Krzentowski et al. (11) and Riddell et al. (24), we hypothesized that during exercise exogenous and endogenous CHO oxidation, respectively, will not be different in the diabetic patients and control subjects. However, Raguso et al. (21) have shown that, when compared to control subjects, in response to a 30-min exercise period at 45 % $\dot{V}O_{2\max}$ without glucose ingestion, the rate of plasma glucose disappearance was lower in diabetic patients, presumably due to a

defective recruitment of glucose transporters. In addition, recent data from Chokkalingam et al. (4) suggest that the oxidation rate of plasma glucose in diabetic patients during exercise could be lower than its rate of disappearance. Based on these results and on the observation that endogenous CHO oxidation during exercise with glucose ingestion was not significantly different in diabetic patients and control subjects (11, 24), we hypothesized that the oxidation of plasma glucose and of glucose released from the liver could be lower, while that of muscle glycogen could be higher in diabetic patients than in control subjects.

2.4 METHODS

Eight control subjects and eight diabetic patients (5 men and 3 women in each group) with similar average age, height, body mass, and maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_2 \text{ max}$) on cycle ergometer (Table 2.1), gave their written informed consent to participate in this study, which was approved by the Ethic Committees on the use of human subjects in research of the Université Laval and the Université du Québec à Trois-Rivières. Both control subjects and diabetic patients were lean, non-smokers, and moderately active (2-5 h/week). The women in both groups were taking oral contraceptives and were studied in the follicular phase of the menstrual cycle (5-7 days after the beginning of menstruations). Insulinotherapy for the diabetic patients included insulin analog Humalog® (Lispro, Eli Lilly Canada inc., Scarborough, Ontario, Canada) before every meal and Humulin N® (Eli Lilly Canada inc., Scarborough, Ontario, Canada) before breakfast and at bedtime. The concentration of glycated haemoglobin (Table 2.1) indicated that at the time of experiment, the patients were in good metabolic control and all of them were free of diabetic complication as assessed by their physician. No episode of hypoglycemia was reported by the diabetic patients for at least 24 hours before the experiment. During the two days preceding the experiment, all subjects refrained from exercising and from ingesting alcohol and caffeine. They also avoided ingesting foods containing CHO with a high ^{13}C content (e.g. corn,

sugar cane) which may modify the background ^{13}C enrichment of plasma glucose and expired CO_2 (12). On the day before the experiment, the evening meal was standardized and taken between 07:00 and 08:00 PM (~13 kcal/kg; ~20 % proteins, ~35 % lipids, ~45 % CHO).

Maximal aerobic power on cycle ergometer (Lode Instrument, The Netherlands) and $\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{max}}$ (open circuit spirometry: Vacumetrics, Ventura, CA) were measured one week before the experiment. On the day of experiment, the subjects reported to the laboratory at 07:15 AM following a 12-h overnight fast and ingested a standardized breakfast at 07:30 AM (~8 kcal/kg; ~20 % proteins, ~30 % lipids, ~50 % CHO). Immediately before the breakfast, the diabetic patients were given their usual morning insulin dose (Humalog® = 9.1 [0.9] U; Humulin N® = 13.9 [4.4] U). Three hours later the subjects exercised for 60 min (from 10:30 to 11:30 AM) on the ergocycle at 50% $\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{max}}$ and were observed for an additional 60-min recovery period (11:30 AM – 12:30 AM). At the end of the recovery period and before leaving the laboratory (~1:00 PM) the subjects ingested a lunch containing 75 g of CHO. In order to prevent possible post-exercise induced hypoglycemia in the diabetic patients, the usual dose of insulin administered before this lunch was reduced by 50 % (Humalog® ~4-5 U).

A 30-g glucose load dissolved in 300 mL of water was ingested 15 min before the beginning of exercise. The glucose derived from corn (Biopharm, Laval, Canada; $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -11.0 \text{‰ } \delta^{13}\text{C PDB}$) was artificially enriched with U ^{13}C -glucose ($^{13}\text{C/C} > 99\%$, Isotec, Miamisburg, OH) in order to achieve a final isotopic composition of $400 \text{‰ } \delta^{13}\text{C PDB}$. This high ^{13}C -enrichment of exogenous glucose provides a strong signal in plasma glucose as well as in expired CO_2 and allows the neglect of the comparatively small changes in background enrichment of expired CO_2 observed from rest to exercise (19).

Observations were made at rest before glucose ingestion, before the beginning of exercise, and every 15 min during the exercise period. Fat and CHO oxidation were computed from indirect respiratory calorimetry corrected for protein oxidation. For this purpose, oxygen consumption ($\dot{V}O_2$) and carbon dioxide production ($\dot{V}CO_2$) were measured using open circuit spirometry (5-min collection period), and urea excretion in urine was measured over five hours (from 7:30 AM to 12:30 AM). For the measurement of the isotopic composition ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of expired CO_2 , 10-mL samples of expired gas were collected in vacutainers. Finally, at rest before ingesting the ^{13}C -glucose, and at regular intervals during the exercise period, 10-mL blood samples were withdrawn through a catheter (Cathlon Clear, Johnson & Johnson) placed in an antecubital vein at the beginning of the experiment, for the measurement of plasma glucose and insulin concentrations, and of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in plasma glucose. Between samplings, the catheter was kept patent by a slow infusion of sterile isotonic saline.

Plasma samples were stored at -80 °C until analysis. In addition, in diabetic patients, plasma glucose concentration was measured at 5-min intervals throughout the period of exercise and the 60-min recovery period to verify that hypoglycemia did not develop (One Touch Ultra glucose meter; LifeScan, Milpitas, CA).

Substrate oxidation was computed from $\dot{V}O_2$ and $\dot{V}CO_2$, in L/min (18):

$$\text{CHO (g of glucose/min)} = 4.59 \dot{V}CO_2 - 3.23 \dot{V}O_2 \quad \text{Eq. 1}$$

$$\text{Fat (g/min)} = 1.70 (\dot{V}O_2 - \dot{V}CO_2) \quad \text{Eq. 2}$$

In these computations, $\dot{V}O_2$ and $\dot{V}CO_2$ were corrected for the average rate of protein oxidized over the 5-h period of observation (38 [12] and 35 [10] mg/min in control subjects and diabetic patients, not significantly different).

Plasma glucose $^{13}C/^{12}C$ was measured as previously described (3). Briefly, plasma glucose was separated by double bed ion exchange chromatography (AG 50W-X8 H⁺ and AG 1-X8 chloride, 200-400 mesh, Biorad, Mississauga, ON, Canada) after deproteinization with barium hydroxide and zinc sulfate (0.3 N). The eluate was evaporated to dryness (Virtis Research Equipment, New York, NY) and combusted (60 min, 400 °C with copper oxide), and the CO₂ was recovered for the isotopic analysis.

Measurement of $^{13}C/^{12}C$ in expired CO₂ and in CO₂ from combustion of plasma glucose was performed by mass spectrometry (Prism, VG, Manchester, UK). The isotopic composition of ingested glucose, expired CO₂, and plasma glucose was expressed in ‰ difference by comparison with the PDB Chicago Standard: $\delta^{13}C_{PDB} = [(Rspl/Rstd) - 1] \times 1000$, where Rspl and Rstd are the $^{13}C/^{12}C$ ratio in the sample and standard (1.1237 %), respectively (3).

The oxidation rate of exogenous glucose, in g/min, was computed as follows (19):

$$\text{Exogenous glucose (g/min)} = \dot{V}CO_2 \cdot [(Rexp - Rref) / (Rexo - Rref)] / k \quad \text{Eq. 3}$$

In this equation, $\dot{V}CO_2$ (not corrected for protein oxidation) is in L/min, Rexp is the observed isotopic composition of expired CO₂, Rref is the isotopic composition of expired CO₂ at rest before ingestion of ^{13}C -glucose, Rexo is the isotopic of the exogenous glucose ingested, and k (0.747 L/g) is the volume of CO₂ provided by the complete oxidation of glucose. In addition, based on the

isotopic composition of plasma glucose (Rglu), the oxidation rate of plasma glucose, in g/min, was computed as follows (5, 20):

$$\text{Plasma glucose (g/min)} = \dot{V}\text{CO}_2 [(\text{Rexp-Rref}) / (\text{Rglu-Rref})] / k \quad \text{Eq. 4}$$

The oxidation rate of muscle glycogen (g/min), either directly or through the lactate shuttle (2), was computed by difference between the rate of total glucose oxidation (Eq. 1) and the oxidation rate of plasma glucose (Eq. 4). Finally, the oxidation rate of glucose released by the liver was estimated by difference between the oxidation rate of plasma and exogenous glucose. These computations are based on the observation that during exercise ^{13}C provided from ^{13}C -glucose is not irreversibly lost in pools of tricarboxylic acid cycle intermediates and/or bicarbonate, and that $^{13}\text{CO}_2$ recovery in expired gases is, thus, complete or almost complete (25, 29). However, the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in expired CO_2 only slowly equilibrates with $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in the CO_2 produced in tissues (17). In order to take into account the delay between $^{13}\text{CO}_2$ production in tissues and at the mouth, exogenous and plasma glucose oxidation, as well as oxidation of glucose released from the liver and muscle glycogen were only computed during the last 30 min of exercise, thus allowing for a 30-min equilibration period.

Plasma glucose concentration was measured using a spectrophotometric assay (Sigma Diagnostics, Mississauga, Canada), while plasma insulin concentration was measured using a radioimmunoassay (KTSP-11001, Immunocorp Sciences, Montreal, Canada).

Results are presented as mean (SD). Comparisons were made using one way or two-way analysis of variance (diabetic patients vs control subjects x time) with repeated measures on one factor (time). When appropriate, Newman-Keuls post-hoc tests were performed. The comparisons were made at the 0.05 level of significance.

2.5 RESULTS

No significant difference was observed for gas exchanges between control subjects and diabetic patients at rest and during the exercise period (Table 2.2). In both groups, the contribution of CHO oxidation to the energy yield significantly decreased while that of fat oxidation significantly increased from min 0-30 to min 30-60 during the exercise period (Table 2.3). However, the oxidation of CHO and fat and their respective contributions to the energy yield were not significantly different in control subjects and in diabetic patients.

The isotopic composition of expired CO₂ at rest before ingestion of ¹³C-glucose was not significantly different in diabetic patients and control subjects (-23.9 [0.89] vs -23.8 [1.2] ‰ δ ¹³C PDB-1, respectively) (Figure 2.1). In response to ¹³C-glucose ingestion, the progressive increase in ¹³C/¹²C in expired CO₂ was slower in diabetic patients than in control subjects (main effect with interaction). The amount of exogenous glucose oxidized, computed between min 30 and 60 during the exercise period was ~20 % higher in the control subjects than in the diabetic patients. However, this difference 1) did not reach statistical significance (Table 2.4), and 2) could be due in part to the fact that exogenous glucose oxidation was underestimated in the diabetic patients because ¹³C/¹²C in expired CO₂ only started to level-off at min 45 vs min 30 in the control subjects (Figure 2.1). The percentage of exogenous glucose which was actually oxidized between min 30 and 60 (21 [4] and 17 [5] in the control subjects and the diabetic patients) and the contribution of exogenous glucose oxidation to the energy yield (Figure 2.2) were not significantly different in the control subjects and diabetic patients.

Figure 2.1 also shows the ¹³C/¹²C in plasma glucose and the percentage of plasma glucose deriving from the ¹³C-glucose ingested. In response to exercise and ¹³C-glucose ingestion, the percentage of plasma glucose deriving from exogenous glucose, significantly increased (main effect). This increase was

significantly higher in the diabetic patients than control subjects (main effect with interaction). The values were similar over the first 30 min of exercise. However, over the second 30-min period of exercise the percentage of plasma glucose deriving from exogenous glucose was higher in diabetic patients than in control subjects.

Table 2.4 and figure 2.2 show that over the last 30 min of exercise, when compared to the observations in control subjects, the oxidation of plasma glucose and of glucose released from the liver and their respective contribution to the energy yield were ~50-55 % lower in diabetic patients. In contrast, the oxidation of muscle glycogen and its contribution to the energy yield were significantly 250 % higher.

In control subjects, plasma glucose concentrations significantly increased in response to glucose ingestion (from 4.8 [0.7] to 6.1 [1.3] mmol/L at min 15 during the exercise period) and then returned to pre-ingestion levels. In diabetic patients, plasma glucose concentration, which was significantly higher than in control subjects over the entire period of observation (main effect), also significantly increased in response to glucose ingestion (from 9.6 [2.9] to 11.7 [3.1] mmol/L at min 15 during the exercise period), but then, significantly decreased below the value observed at rest before exercise (7.5 [3.4] mmol/L at the end of exercise period). In control subjects, glucose ingestion transiently increased plasma insulin concentration over basal value at min 0. In diabetic patients plasma insulin concentration was significantly higher than in control subjects at rest and exercise (main effect), and slowly decreased over the observation period.

2.6 DISCUSSION

Data from Wahren et al. (30), Lyngsoe et al. (13), and Ramirez et al. (22) show that in diabetic patients deprived of insulin for 12-24 h, during prolonged moderate exercise without glucose ingestion, the respiratory exchange ratio is lower, and thus fat oxidation is higher, than in control subjects. In contrast, when insulin is administered to diabetic patients before or during moderate exercise without ingestion of glucose, fuel selection is not significantly different than in control subjects (14, 21, 24). Ingestion of glucose immediately before exercise is advocated in diabetic patients receiving a normal or reduced dose of insulin (1) in order to avoid exercise-induced hypoglycemia (8, 15). However, there is a paucity of data on substrate utilization in this situation (7, 11, 24). In the study by Francescato et al. (7) conducted at various time intervals following insulin injection and with different amounts of glucose ingested, fat and CHO oxidation were not significantly different, respectively, from those observed in control subjects. However, the control subjects did not receive any exogenous glucose. In the studies by Riddell et al. (24) and Krzentowski et al. (11) both the control subjects and the insulin-treated diabetic patients ingested glucose before and/or during exercise. In these two studies, the oxidation of fat and CHO were not significantly different, respectively, in the two groups. Results from the present experiment are well in line with these observations: in diabetic patients receiving their usual insulin dose along with the breakfast 3 h before exercise, and a 30-g glucose load 15 min before exercise, total CHO and total fat oxidation, respectively, were not significantly different from those observed in control subjects during a 60-min period at 50 % $\dot{V}O_{2\max}$.

In the studies by Krzentowski et al. (11) and by Riddell et al. (24), the glucose ingested was labeled with ^{13}C in order to measure exogenous glucose oxidation. In both studies the progressive increase in $\dot{V}^{13}\text{CO}_2$ at the mouth was slower and reached its maximum later in diabetic patients (11, 24), and in the study by

Riddell et al. (24) the percent contribution of exogenous glucose oxidation to the energy yield was significantly lower in diabetic patients than in control subjects. However, the amount of exogenous glucose oxidized over the exercise period was only slightly and not significantly lower in diabetic patients than in control subjects (11, 24). Since total CHO oxidation was not significantly different in diabetic patients and control subjects, endogenous glucose oxidation was not significantly different in the two groups in both the studies from Krzentowski et al. (11) and Riddell et al. (24). Results from the present experiment confirm these findings. The appearance of ^{13}C in expired CO_2 was delayed over the first 30 min of exercise, but over the second part of exercise (min 30 to 60) the amount of exogenous glucose oxidized and its contribution to the energy yield was not significantly different in the diabetic patients and control subjects. Endogenous glucose oxidation was also similar over the last 30-min period of exercise in diabetic patients and in control subjects (37 [18] vs 33 [14] g/30 min, contributing 54 [13] vs 49 [11] % to the energy yield, respectively). Taken together these results from Krzentowski et al. (11), Riddell et al. (24), and from the present experiment show that in diabetic patients receiving insulin, overall fuel selection, including the oxidation of exogenous glucose is not different from that observed in their control counterparts.

We are not aware of any study of plasma glucose oxidation during prolonged moderate exercise in type 1 diabetic patients, and there are only a limited number of studies of the rate of plasma glucose disappearance (Rd) (4, 21, 26, 27, 32). In addition, all these studies have been conducted without administration of glucose except for the recent study by Chokkalingam et al. (4) conducted under a slightly hyperglycemic (8 mmol/L) hyperinsulinemic clamp. No significant difference was observed for plasma glucose Rd between control subjects and diabetic patients by Shilo et al. (26), Zinman et al. (32) and Simonson et al. (27). In contrast, in the study by Raguso et al. (21), the increase in plasma glucose Rd was similar in diabetic patients and in control subjects at

75 % $\dot{V}O_2 \text{ max}$, but was ~50 % lower in diabetic patients than in control subjects at 45 % $\dot{V}O_2 \text{ max}$. In addition, data from Chokkalingam et al. (4) suggest that in diabetic patients plasma glucose oxidation could be much lower than its rate of disappearance. Unfortunately, no control subjects were included in this study. In line with these observations, in the present experiment, in spite of higher plasma glucose and insulin concentrations in diabetic patients than in control subjects, the oxidation of plasma glucose and that of glucose derived from the liver (Table 2.4) as well as their respective contributions to the energy yield (Figure 2.2) were much lower in the diabetic patients than in control subjects. As discussed by Raguso et al. (21) and Chokkalingam et al. (4) this is probably due to a defect in insulin-mediated glucose transport in the muscle fiber in patients with type 1 diabetes. This hypothesis is supported by data from Klip et al. (10) in rats with streptozotocin-induced diabetes. When compared to control rats, the number of GLUT4 transporters in the intracellular pool was lower and their redistribution on plasma membrane following insulin stimulation was also lower. As a consequence insulin-stimulated glucose uptake was also ~50 % lower. Nuutila et al. (16) and Yki-Jarvinen et al. (31) also showed that insulin-stimulated muscle plasma glucose uptake was ~25 to ~45 % lower in type 1 diabetic patients than in control subjects.

In the present experiment, total CHO oxidation was not significantly different in the two groups indicating a larger oxidation of glucose derived from muscle glycogen which compensated for the lower oxidation rate of plasma glucose in the diabetic patients (Table 2.4 and figure 2.2). This observation differs from that of Raguso et al. (21), in which the reduction in plasma glucose oxidation (assumed to be equal to plasma glucose R_d) was compensated for by an increased intramuscular triglyceride oxidation, while muscle glycogen oxidation was not significantly different in diabetic patients and control subjects. Standl et al. (28) also reported that the reduction in muscle glycogen content over a 60-min exercise period at 50-60 % $\dot{V}O_2 \text{ max}$ without glucose ingestion, was not

significantly different in well controlled diabetic patients and in control subjects. However, the diabetic patients but not the control subjects ingested 36 g of CHO during the exercise period and this could have resulted in muscle glycogen sparing. As for the difference between results from the present experiment and from that by Raguso et al. (21), it could stem from the fact that in the study by Raguso et al. (21) the two groups were studied following a 12-h fast, while in the present experiment the diabetic patients and the control subjects both ingested a breakfast three hours before, and 30 g of glucose 15 min before the beginning of exercise.

In conclusion, taken together results from the two studies available in the literature (11, 24) as well as results from the present experiment suggest that when compared to control subjects, when exogenous glucose is ingested immediately before or during exercise in diabetic patients, although its availability could be slightly delayed, its oxidation rate is not significantly reduced. Moreover, these results suggest that when glucose is ingested before exercise, diabetic patients rely more on muscle glycogen and less on plasma glucose oxidation than control subjects.

2.7 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Claire Chénard and Alexandre Melançon (Laboratoire de biochimie de l'exercice, UQTR) and Jennifer McKay (GEOTOP, UQAM) for technical assistance.

This study was supported by the Canadian Diabetes Association and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada.

2.8 REFERENCES

1. Berger M. Adjustment of insulin and oral agent therapy. In: *Handbook of exercise in diabetes*, edited by Ruderman N: American diabetes association, 2002, p. 365-376.
2. Brooks GA. The lactate shuttle during exercise and recovery. *Med Sci Sports Exerc* 18: 360-368, 1986.
3. Burelle Y, Peronnet F, Charpentier S, Lavoie C, Hillaire-Marcel C, and Massicotte D. Oxidation of an oral [13C]glucose load at rest and prolonged exercise in trained and sedentary subjects. *J Appl Physiol* 86: 52-60, 1999.
4. Chokkalingam K, Tsintzas K, Norton L, Jewell K, Macdonald IA, and Mansell PI. Exercise under hyperinsulinaemic conditions increases whole-body glucose disposal without affecting muscle glycogen utilisation in type 1 diabetes. *Diabetologia* 50: 414-421, 2007.
5. Couture S, Massicotte D, Lavoie C, Hillaire-Marcel C, and Peronnet F. Oral [(13)C]glucose and endogenous energy substrate oxidation during prolonged treadmill running. *J Appl Physiol* 92: 1255-1260, 2002.
6. Derman KD, Hawley JA, Noakes TD, and Dennis SC. Fuel kinetics during intense running and cycling when fed carbohydrate. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 74: 36-43, 1996.
7. Francescato MP, Geat M, Fusi S, Stupar G, Noacco C, and Cattin L. Carbohydrate requirement and insulin concentration during moderate exercise in type 1 diabetic patients. *Metabolism* 53: 1126-1130, 2004.
8. Franz MJ. Nutrition, physical activity, and diabetes. In: *Handbook of exercise in diabetes*, edited by Ruderman N: American Diabetes Association, 2002, p. 321-337.
9. Jentjens RL, Wagenmakers AJ, and Jeukendrup AE. Heat stress increases muscle glycogen use but reduces the oxidation of ingested carbohydrates during exercise. *J Appl Physiol* 92: 1562-1572, 2002.

10. Klip A, Ramlal T, Bilan PJ, Cartee GD, Gulve EA, and Holloszy JO. Recruitment of GLUT-4 glucose transporters by insulin in diabetic rat skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 172: 728-736, 1990.
11. Krzentowski G, Pirnay F, Pallikarakis N, Luyckx AS, Lacroix M, Mosora F, and Lefebvre PJ. Glucose utilization during exercise in normal and diabetic subjects. The role of insulin. *Diabetes* 30: 983-989, 1981.
12. Lefebvre PJ. From plant physiology to human metabolic investigations. *Diabetologia* 28: 255-263, 1985.
13. Lyngsoe J, Clausen JP, Trap-Jensen J, Sestoft L, Schaffalitzky de Muckadell O, Holst JJ, Nielsen SL, and Rehfeld JF. Exchange of metabolites in the leg of exercising juvenile diabetic subjects. *Clin Sci Mol Med* 55: 73-80, 1978.
14. Murray FT, Zinman B, McClean PA, Denoga A, Albisser AM, Leibel BS, Nakhooda AF, Stokes EF, and Marliss EB. The metabolic response to moderate exercise in diabetic man receiving intravenous and subcutaneous insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 44: 708-720, 1977.
15. Nathan DM, Madnek SF, and Delahanty L. Programming pre-exercise snacks to prevent post-exercise hypoglycemia in intensively treated insulin-dependent diabetics. *Ann Intern Med* 102: 483-486, 1985.
16. Nuutila P, Knuuti J, Ruotsalainen U, Koivisto VA, Eronen E, Teras M, Bergman J, Haaparanta M, Voipio-Pulkki LM, Viikari J, and et al. Insulin resistance is localized to skeletal but not heart muscle in type 1 diabetes. *Am J Physiol* 264: E756-762, 1993.
17. Pallikarakis N, Sphiris N, and Lefebvre P. Influence of the bicarbonate pool and on the occurrence of $^{13}\text{CO}_2$ in exhaled air. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 63: 179-183, 1991.
18. Peronnet F and Massicotte D. Table of nonprotein respiratory quotient: an update. *Can J Sport Sci* 16: 23-29, 1991.
19. Peronnet F, Massicotte D, Brisson G, and Hillaire-Marcel C. Use of ^{13}C substrates for metabolic studies in exercise: methodological considerations. *J Appl Physiol* 69: 1047-1052, 1990.

20. Peronnet F, Rheaume N, Lavoie C, Hillaire-Marcel C, and Massicotte D. Oral [¹³C]glucose oxidation during prolonged exercise after high- and low-carbohydrate diets. *J Appl Physiol* 85: 723-730, 1998.
21. Raguso CA, Coggan AR, Gastaldelli A, Sidossis LS, Bastyr EJ, 3rd, and Wolfe RR. Lipid and carbohydrate metabolism in IDDM during moderate and intense exercise. *Diabetes* 44: 1066-1074, 1995.
22. Ramires PR, Forjaz CL, Strunz CM, Silva ME, Diament J, Nicolau W, Liberman B, and Negrao CE. Oral glucose ingestion increases endurance capacity in normal and diabetic (type I) humans. *J Appl Physiol* 83: 608-614, 1997.
23. Riddell MC, Bar-Or O, Ayub BV, Calvert RE, and Heigenhauser GJ. Glucose ingestion matched with total carbohydrate utilization attenuates hypoglycemia during exercise in adolescents with IDDM. *Int J Sport Nutr* 9: 24-34, 1999.
24. Riddell MC, Bar-Or O, Hollidge-Horvat M, Schwarcz HP, and Heigenhauser GJ. Glucose ingestion and substrate utilization during exercise in boys with IDDM. *J Appl Physiol* 88: 1239-1246, 2000.
25. Ruzzin J, Peronnet F, Tremblay J, Massicotte D, and Lavoie C. Breath [¹³CO₂] recovery from an oral glucose load during exercise: comparison between [U-¹³C] and [1,2-¹³C]glucose. *J Appl Physiol* 95: 477-482, 2003.
26. Shilo S, Sotsky M, and Shamoon H. Islet hormonal regulation of glucose turnover during exercise in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 162-172, 1990.
27. Simonson DC, Koivisto V, Sherwin RS, Ferrannini E, Hendler R, Juhlin-Dannfelt A, and DeFronzo RA. Adrenergic blockade alters glucose kinetics during exercise in insulin-dependent diabetics. *J Clin Invest* 73: 1648-1658, 1984.
28. Standl E, Lotz N, Dexel T, Janka HU, and Kolb HJ. Muscle triglycerides in diabetic subjects. Effect of insulin deficiency and exercise. *Diabetologia* 18: 463-469, 1980.

29. Trimmer JK, Casazza GA, Horning MA, and Brooks GA. Recovery of (13)CO₂ during rest and exercise after [1-(13)C]acetate, [2-(13)C]acetate, and NaH(13)CO₃ infusions. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E683-692, 2001.
30. Wahren J, Hagenfeldt L, and Felig P. Splanchnic and leg exchange of glucose, amino acids, and free fatty acids during exercise in diabetes mellitus. *J Clin Invest* 55: 1303-1314, 1975.
31. Yki-Jarvinen H, Sahlin K, Ren JM, and Koivisto VA. Localization of rate-limiting defect for glucose disposal in skeletal muscle of insulin-resistant type I diabetic patients. *Diabetes* 39: 157-167, 1990.
32. Zinman B, Murray FT, Vranic M, Albiner AM, Leibel BS, Mc Clean PA, and Marliss EB. Glucoregulation during moderate exercise in insulin treated diabetics. *J Clin Endocrinol Metab* 45: 641-652, 1977.

TABLE 2.1
Characteristics of the control subjects and diabetic patients; mean (SD);
significantly different from control subjects, p < 0.05 (*)

	Control subjects	Diabetics patients
	n = 8	n = 8
Age (years)	24.0 (1.8)	26.5 (6.8)
Body mass (kg)	79.0 (19.0)	78.1 (12.3)
Height (cm)	175.4 (13.0)	175.5 (8.7)
BMI (kg/m^2)	25.5 (4.8)	25.2 (2.2)
Duration of diabetes (years)	N/A	12.8 (6.8)
Daily insulin dose (U/day)	N/A	69.0 (19.5)
Glycated hemoglobin (HbA _{1c} in %)	5.0 (0.4)	7.4 (0.4) *
Max power output (W)	259.4 (77.9)	256.3 (77.6)
$\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{max}}$ ($\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	42.3 (6.6)	42.9 (10.3)

TABLE 2.2
**Gas exchanges at the mouth at rest and over the 60-min exercise period;
 mean (SD); significantly different from the interval min 0-30, p < 0.05 (*).**

		Control subjects n = 8	Diabetic patients n = 8
Rest	\dot{V}_{O_2} (L/min)	0.40 (0.11)	0.38 (0.07)
	\dot{V}_{CO_2} (L/min)	0.34 (0.10)	0.31 (0.08)
	RER	0.856 (0.036)	0.804 (0.064)
Exercise	\dot{V}_{O_2} (L/min)	min 0-30	1.68 (0.48)
		min 30-60	1.68 (0.46)
	\dot{V}_{CO_2} (L/min)	min 0-30	1.51 (0.45)
		min 30-60	1.47 (0.42)
	RER	min 0-30	0.894 (0.031)
		min 30-60	0.875 (0.028)*

TABLE 2.3
Total carbohydrate (CHO) and fat oxidation and percent contribution to the energy yield (% energy) during rest and exercise: the contribution of protein oxidation to the energy yield averaged 2-3 %; mean (SD); significantly different from min 0-30, p < 0.05 (*).

		Control subjects n = 8	Diabetic patients n= 8
Rest	CHO (g/min)	0.26 (0.12)	0.17 (0.14)
	% energy	49.2 (11.8)	30.7 (23.8)
	Fat (g/min)	0.08 (0.03)	0.11 (0.03)
	% energy	41.6 (12.0)	60.0 (22.0)
Exercise	CHO (g/min)	min 0-30	1.47 (0.57)
		min 30-60	1.32 (0.48)
	% energy	min 0-30	65.2 (10.2)
		min 30-60	59.0 (9.2)*
	Fat (g/min)	min 0-30	0.28 (0.09)
		min 30-60	0.33 (0.10)*
	% energy	min 0-30	32.7 (10.3)
		min 30-60	38.9 (9.4)*

TABLE 2.4
Oxidation of glucose, in g, from various sources over the last 30 min of exercise in the control subjects and diabetic patients; mean (SD); significantly different than control subjects, $p < 0.05$ (*).

	Control subjects	Diabetic patients
	n = 8	n = 8
Total glucose	39.5 (14.5)	42.5 (19.0)
Exogenous glucose	6.3 (1.3)	5.2 (1.6)
Plasma glucose	27.9 (13.3)	14.5 (4.3)*
Glucose from liver	21.6 (12.8)	9.3 (2.8)*
Muscle glycogen	11.6 (8.1)	28.1 (15.5)*

2.9 FIGURE LEGENDS

Figure 2.1: Isotopic composition ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of expired CO_2 (Rexp: bottom) and plasma glucose (Rglu: top), and percentage of plasma glucose arising from exogenous glucose (top) following ^{13}C -glucose ingestion in the control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different in the control subjects and diabetic patients (main effect with interaction for Rglu and Rexp) and significantly different from the control subjects (*): two-way analysis of variance (group x time) with repeated measures on one factor (time), $p < 0.05$.

Figure 2.2: Oxidation of glucose from various sources between min 30 and 60 during exercise in control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different from the control subjects (*): one-way analysis of variance for independent measures, $p < 0.05$.

Figure 2.3: Plasma glucose and insulin concentrations in the control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different from the corresponding peak value (*) and significantly different in the control subjects and diabetic patients (main effect with interaction for both variables): two-way analysis of variance (group x time) with repeated measures on one factor (time), $p < 0.05$.

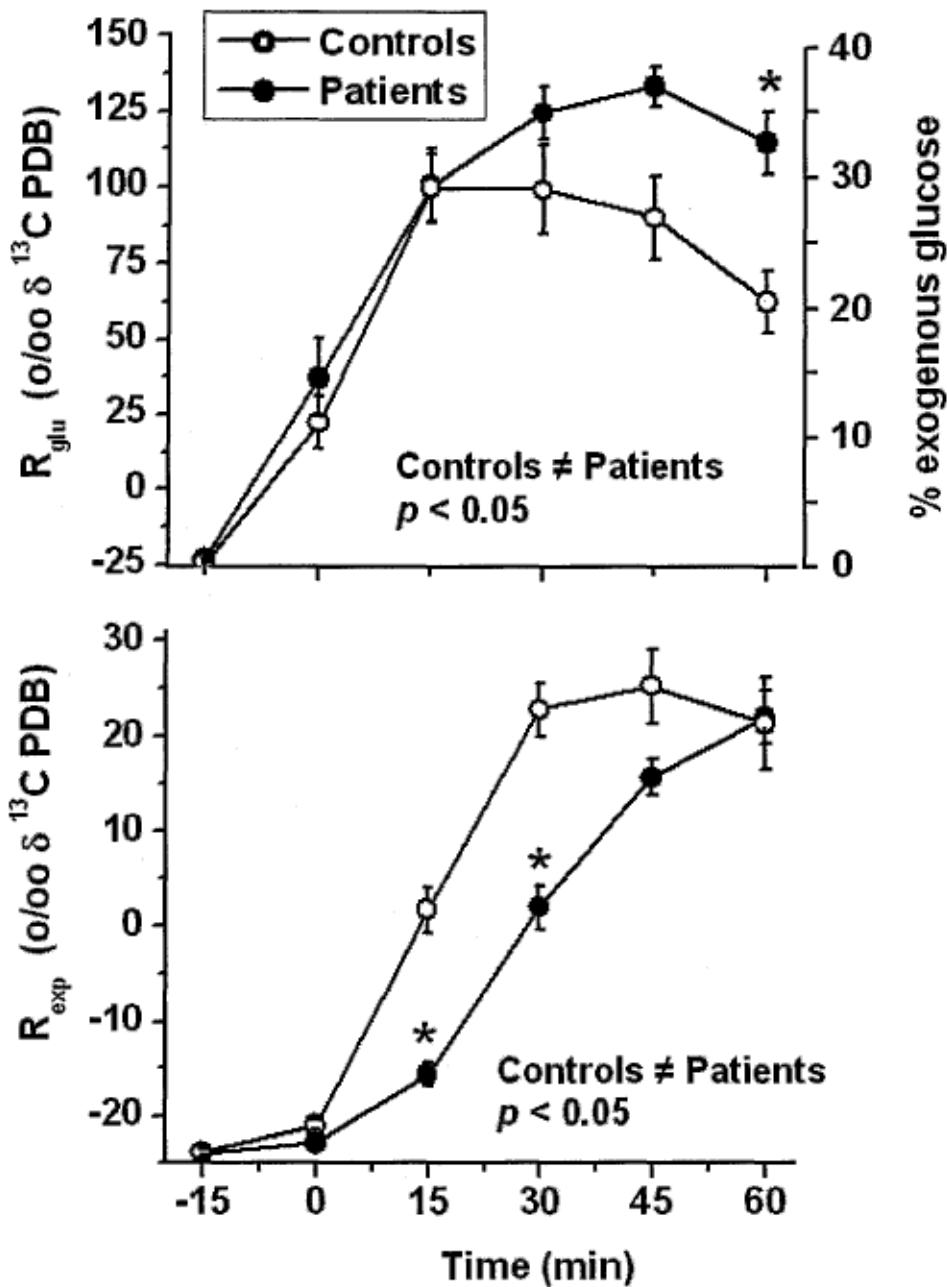


FIGURE 2.1 : Isotopic composition ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of expired CO_2 (R_{exp} : bottom) and plasma glucose (R_{glu} : top), and percentage of plasma glucose arising from exogenous glucose (top) following ^{13}C -glucose ingestion in the control subjects and diabetic patients: mean (SD), $n = 8$; significantly different in the control subjects and diabetic patients (main effect with interaction for R_{glu} and R_{exp}) and significantly different from the control subjects (*): two-way analysis of variance (group x time) with repeated measures on one factor (time), $p < 0.05$.

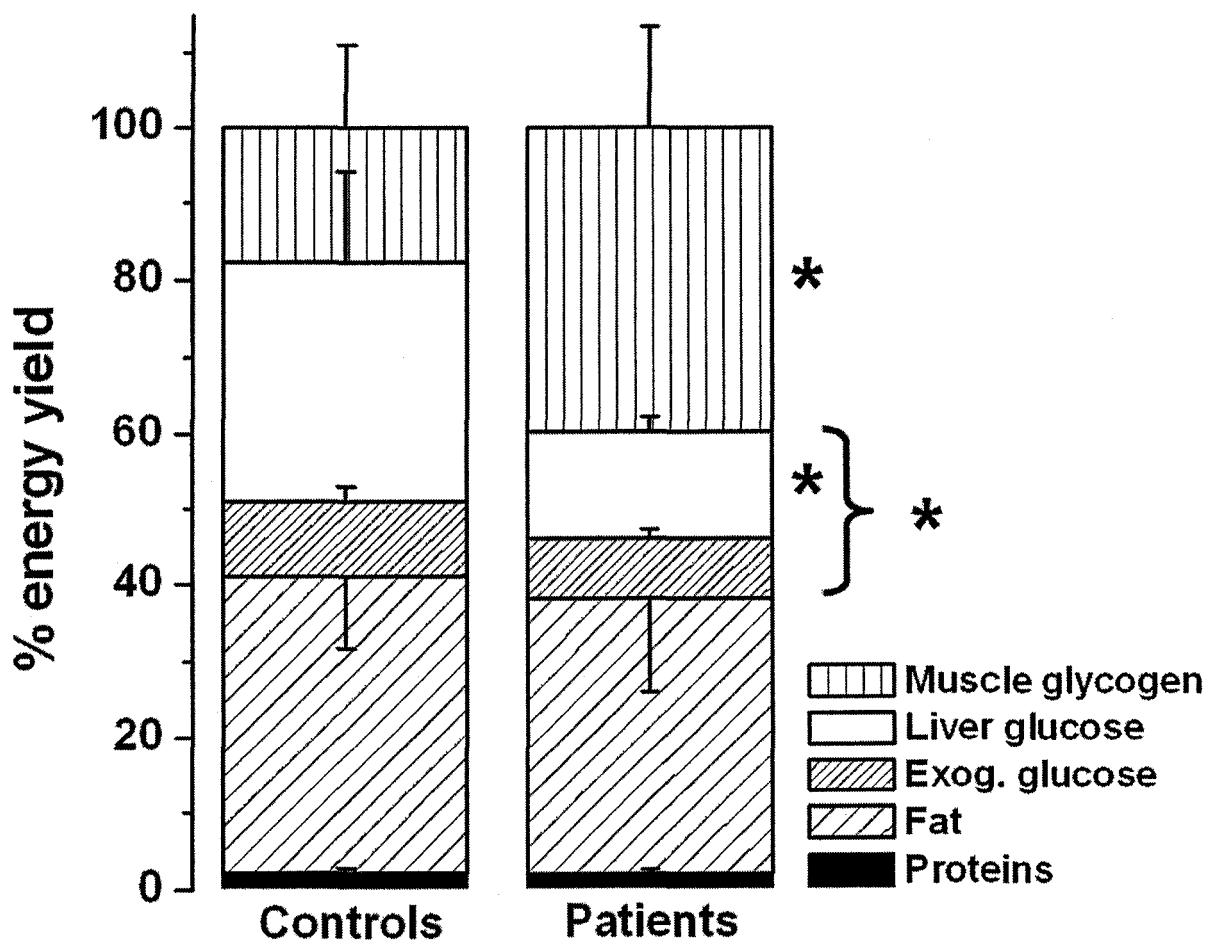


FIGURE 2.2 : Oxidation of glucose from various sources between min 30 and 60 during exercise in control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different from the control subjects (*): one-way analysis of variance for independent measures, $p < 0.05$.

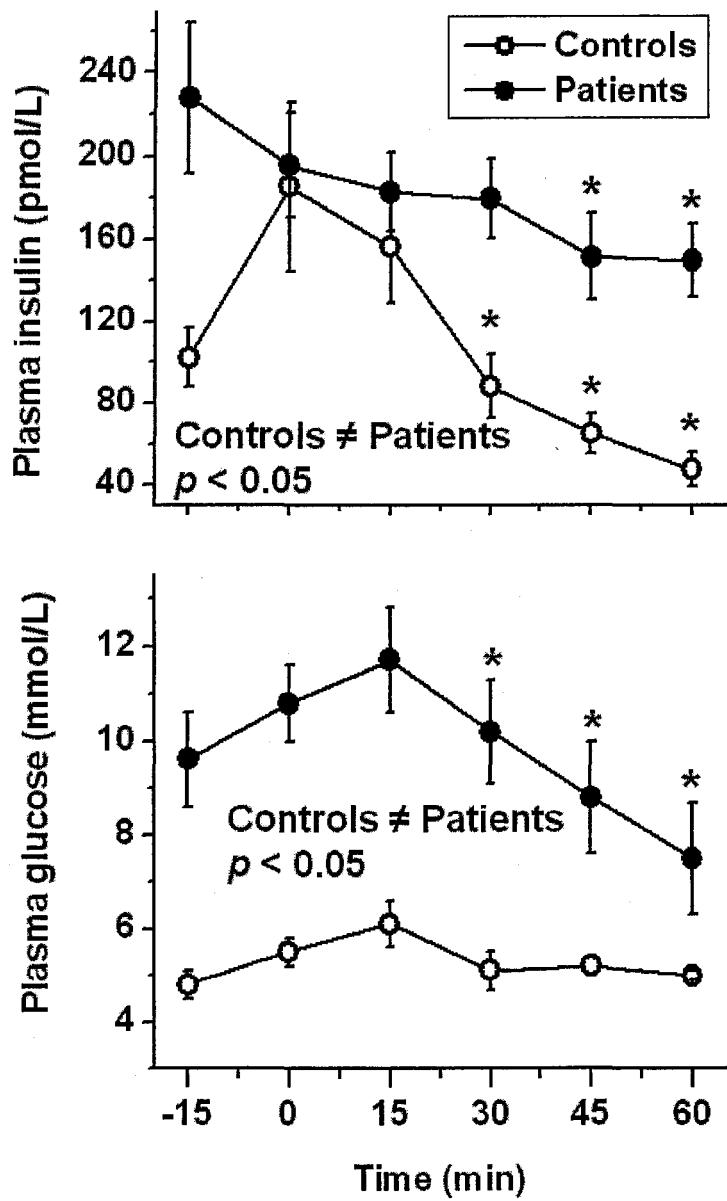


FIGURE 2.3 : Plasma glucose and insulin concentrations in the control subjects and diabetic patients: mean (SD), n = 8; significantly different from the corresponding peak value (*) and significantly different in the control subjects and diabetic patients (main effect with interaction for both variables): two-way analysis of variance (group x time) with repeated measures on one factor (time), p < 0.05.

CHAPITRE 3

DISCUSSION

L'objectif de ce projet de maîtrise était de comparer le métabolisme énergétique des patients diabétiques de type 1 recevant leur dose usuelle d'insuline (3 heures avant l'exercice) à l'exercice suivant l'ingestion de glucose (30 g) à celui des sujets sains. Spécifiquement, nous voulions calculer et comparer les contributions relatives des lipides et des diverses sources de glucides utilisées lors d'une période d'exercice de 60 minutes d'intensité modérée chez les patients diabétiques et les sujets sains.

3.1 SOMMAIRE DES RÉSULTATS

Les résultats obtenus lors de la présente étude montrent que la contribution des lipides et des glucides à la DE lors d'une période d'exercice de 60 minutes à 50 % du $\dot{V}O_{2\text{max}}$ suivant l'ingestion d'une collation glucidique est similaire chez les patients diabétiques ayant reçu leur dose usuelle d'insuline et chez les sujets sains. Bien qu'environ 20 % inférieure chez les patients diabétiques, la quantité et la contribution à la DE du glucose exogène oxydé lors des 30 dernières minutes d'exercice furent similaires sans toutefois atteindre le seuil de significativité. Par contre, la quantité et la contribution à la DE de la production hépatique de glucose, de même que celles du glucose circulant (PHG et glucose exogène) furent significativement inférieures chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. La quantité de glucose oxydé provenant de la dégradation du glycogène musculaire et sa contribution à la DE furent significativement supérieures chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains.

Bien que nous n'ayons pas rapporté l'oxydation du glucose exogène lors des 30 premières minutes de l'exercice dû à la période d'équilibration des ions

carbonates (Pallikarakis et al. (1991)), la contribution du glucose exogène à la DE chez les patients diabétiques s'est avérée inférieure à celle des sujets sains en début d'exercice. En effet, les résultats de l'enrichissement isotopique du CO₂ expiré, lors des 30 premières minutes de la période d'exercice, démontrent un retard significatif de la transformation du ¹³C-glucose en ¹³CO₂ chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. Par ailleurs, l'enrichissement du glucose circulant fut similaire lors des 30 premières minutes de la période d'exercice pour devenir significativement inférieur chez les sujets sains à la fin de la période d'exercice. En présumant que le délai entre la formation du ¹³CO₂ produit par l'oxydation du glucose exogène et son expulsion soient similaires chez les patients diabétiques et les sujets sains, les résultats de notre étude montrent que le glucose exogène semble s'incorporer au fluide extracellulaire au même rythme dans les deux groupes. Pour le délai entre la formation du ¹³CO₂ et son expulsion aucune étude n'est disponible pour confirmer ou infirmer cette similarité chez les patients diabétiques. Cependant, son oxydation par les cellules musculaires est retardée chez les patients diabétiques comparée aux sujets sains. Ainsi, le glucose exogène s'accumule dans le fluide extracellulaire des patients diabétiques provoquant un enrichissement isotopique du glucose circulant supérieur aux sujets sains en fin d'exercice.

Chez les sujets sains, l'ingestion de glucose a provoqué une augmentation transitoire de la concentration plasmatique d'insuline (figure 1.3). La concentration plasmatique d'insuline a par la suite diminuée tout au long de l'exercice. Chez les patients diabétiques, la concentration plasmatique d'insuline, de source exogène, n'a pas été influencée ni par l'ingestion de glucose ni par l'exercice. La concentration plasmatique d'insuline fut significativement supérieure chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains à partir de la 30^{ième} minute d'exercice. La glycémie des sujets sains (figure 2.3) est demeurée similaire tout au long de l'étude, correspondant au niveau basal normal des sujets sains (~5 mmol/L). La glycémie des patients

diabétiques a significativement augmenté suivant l'ingestion de glucose et fut significativement inférieure à son niveau initial à la fin de la période d'exercice. Pour l'ensemble de l'étude, les glycémies des patients diabétiques sont demeurées significativement supérieure à celle des sujets sains.

3.2 ÉTUDES ANTÉRIEURES

Nos résultats sont consistants avec la littérature scientifique : lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez des patients diabétiques recevant de l'insuline, la contribution des lipides et des glucides à la DE est similaire à celle des sujets sains. De plus, nos résultats concernant la contribution du glucose circulant à la DE inférieure chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains sont consistants avec Raguso et al. (1995). Ces auteurs rapportent une diminution de la capacité de l'insuline et de l'exercice à stimuler la captation et l'oxydation du glucose circulant par les cellules musculaires. Les résultats de la présente recherche s'avèrent en relation directe avec l'étude de Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000). Riddell et al. (2000) qui ont rapporté une contribution du glucose exogène à la DE inférieure chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains, et ce malgré une quantité absolue de glucose exogène oxydée similaire dans les deux groupes. Krzentowski et al. (1981) ont eux aussi rapporté une quantité absolue de glucose exogène oxydée similaire dans les deux groupes, cependant la transformation du ^{13}C -glucose en $^{13}\text{CO}_2$ fut retardée et inférieure (~40%) lors des 60 premières minutes de l'exercice.

À notre connaissance, peu d'études (Raguso et al. (1995) et Standl et al. (1980)) ont calculé l'utilisation du glycogène musculaire lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez les patients diabétiques. Raguso et al. (1995) ont constaté une contribution du glycogène musculaire similaire entre les patients diabétiques et les sujets sains lors d'un exercice d'intensité modérée de

30 minutes suivant une période de jeûne de 10-12 heures. Par biopsies musculaires, Standl et al. (1980) ont eu aussi montré une utilisation du glycogène musculaire similaire chez les patients diabétiques recevant 80-90 % de leur dose matinale d'insuline et les sujets sains, lors d'un exercice de 60 minutes à 50-60 % $\dot{V}O_{2\text{max}}$. Cependant, Raguso et al. (1995) ne donnaient pas de supplément glucidique avant l'exercice et Standl et al. (1980) ont donné un supplément glucidique aux sujets diabétiques uniquement. Chez les sujets sains, les suppléments glucidiques peuvent diminuer l'utilisation du glycogène musculaire dépendamment de la puissance et de la durée de l'exercice, du type et de la quantité de glucides ingérés (Arkinstall et al. (2001); Febbraio et al. (2000)). Chez les sujets sains, une ingestion de glucides provoquant une élévation de la concentration plasmatique d'insuline entraîne une préservation des réserves de glycogène musculaire (Tsintzas et Williams (1998)). Dans la présente étude, l'ingestion d'une solution de glucose (30 g) a provoqué une élévation significative de la concentration plasmatique d'insuline chez les sujets sains. Selon Tsintzas et Williams (1998), cette élévation de la concentration plasmatique d'insuline pourrait expliquer les résultats de la présente recherche montrant une utilisation inférieure du glycogène musculaire chez les sujets sains comparativement aux patients diabétiques. Ces résultats sont, à notre connaissance, les premiers de la littérature scientifique lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée suivant l'ingestion de glucides chez les patients diabétiques recevant leur dose usuelle d'insuline.

3.3 MÉCANISMES RESPONSABLES DES PERTURBATIONS MÉTABOLIQUES

Les principaux facteurs influençant les flux métaboliques à l'exercice chez les patients diabétiques présentés dans le présent ouvrage sont la présence ou l'absence d'insuline chez les patients diabétiques et l'ingestion d'un supplément glucidique avant ou pendant l'exercice.

3.3.1 Insuline et supplément glucidique

La littérature scientifique montre que l'absence d'insuline chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains résulte en une contribution supérieure pour les lipides et une contribution inférieure pour les glucides à la DE (Wahren et al. (1975); Ramires et al. (1997)). Les principaux effets de l'insuline sont d'accélérer le transport du glucose membranaire via le recrutement des GLUT4, de favoriser la glycogenèse, de diminuer la glycogénolyse et la néoglucogenèse et d'augmenter la lipogenèse. À l'opposé, l'absence d'insuline provoque une diminution de la captation du glucose circulant par les cellules musculaires, favorise la PHG et la lipolyse. En période d'exercice, Wasserman (1995) suggère que l'étape limitant l'oxydation du glucose par les cellules musculaires soit sa captation cellulaire. L'absence d'insuline se traduisant ainsi par une diminution de la contribution des glucides à la DE. De plus, en favorisant la lipolyse, l'absence d'insuline entraîne une oxydation accrue des lipides et donc, une contribution à la DE supérieure. Chez les sujets sains, la présence d'insuline, bien que diminuée en période d'exercice, est suffisante pour permettre une captation et une oxydation du glucose supérieures à celles observées chez les patients diabétiques, tout en diminuant l'oxydation des lipides.

Les données recueillies dans la littérature scientifique suggèrent peu d'influence de l'ingestion d'un supplément glucidique sur la contribution des lipides et des glucides à la DE des patients diabétiques lorsque comparée à celle des sujets sains (Krzentowski et al. (1980); Riddell et al (2000); Francescato et al. (2004)). Bien que l'ingestion d'un supplément glucidique augmente la contribution des glucides à la DE relativement aux lipides, l'augmentation rapportée est similaire chez les patients diabétiques et les sujets sains (Ramires et al. (1997); Riddell et al. (2000)). La présence ou l'absence d'insuline semble être le facteur

prépondérant sur les différences observées entre les patients diabétiques et les sujets sains en ce qui concerne la contribution relative des lipides et des glucides à la fourniture d'énergie.

3.3.2 Transporteurs du glucose et oxydation du glucose circulant

Lors d'une période d'exercice, l'utilisation du glucose circulant comme substrat énergétique par les cellules musculaires augmente dramatiquement en fonction, notamment, de l'intensité et la durée de l'exercice. Les deux principaux facteurs responsables de cette augmentation sont : 1) un accroissement du débit sanguin entraînant une augmentation de l'arrivée de glucose et d'insuline aux cellules musculaires et 2) l'activation des mécanismes cellulaires de transport du glucose stimulée par la contraction musculaire et l'insuline (Koivisto et al. (1993)). Ces événements mènent à une synergie de l'exercice et de l'insuline dans la stimulation de l'utilisation du glucose circulant comme substrat énergétique.

Le glucose est une molécule polaire nécessitant un système de transport pour entrer dans la cellule : les molécules de glucose ne peuvent pas traverser librement la double membrane lipidique. La captation cellulaire du glucose s'effectue par des glycoprotéines localisées dans la membrane plasmique qui reconnaissent le glucose et le transportent à travers la bicouche lipidique. À l'inverse du cotransporteur glucose-Na⁺ qui se retrouve dans les cellules épithéliales du rein et de l'intestin et qui nécessite l'utilisation d'énergie, les transporteurs présents à la surface des cellules musculaires agissent de façon passive selon le gradient de concentration. Le transport du glucose n'est pas la propriété d'une seule molécule, mais celle d'une famille de 12 isoformes, GLUT1-GLUT12. Au niveau de la cellule musculaire, GLUT1 et GLUT4 sont les principaux responsables du captage du glucose. GLUT1 serait responsable du transport basal de glucose et l'isoforme GLUT4 serait le principal responsable

de l'augmentation du captage de glucose en période d'utilisation accrue. GLUT1 se trouve en permanence à la surface des cellules musculaires et est insulino-indépendant. À l'inverse, GLUT4 se trouve dans une membrane intracellulaire et sa translocation à la surface de la cellule est stimulée par l'insuline et la contraction musculaire (Lodish et al. (2004)).

La translocation des transporteurs GLUT4 est activée par deux voies de signalisation cellulaire distinctes : une voie stimulée par l'insuline et la seconde par la contraction musculaire (Figure 3.1). Ces voies de signalisation cellulaire agissent de façon synergique et permettent l'augmentation de la captation cellulaire de glucose (Tremblay et al. (2003)).

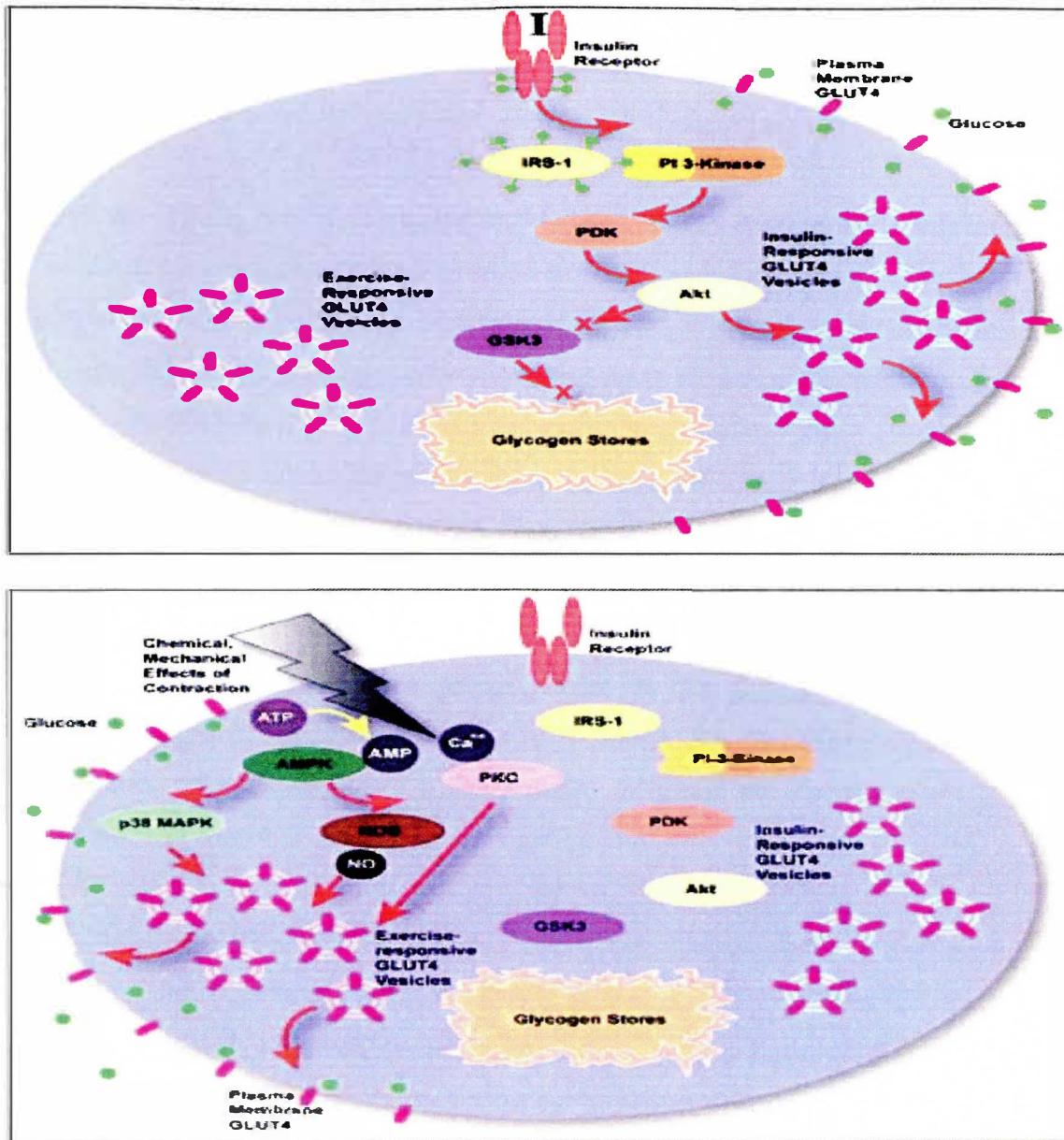


FIGURE 3.1: Voies de signalisation impliquées dans la translocation des transporteurs de glucose GLUT 4. Stimulation par l'insuline (haut) et par la contraction musculaire (bas).

La résistance à l'action de l'insuline caractérise les patients atteints de diabète de type 1, démontrée par une diminution (30-55 %) de la capacité de l'insuline à stimuler la captation du glucose par les cellules musculaires chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains (Nuutila et al. (1993), Koivisto et

al. (1993)). Théoriquement, la diminution du transport cellulaire de glucose peut être attribuée à une diminution du nombre de transporteurs à la surface de la cellule et/ou à une réduction de son activité intrinsèque (Klip et al. (1992)).

Klip et al. (1990) ont étudié la capacité de l'insuline à stimuler la captation du glucose par les cellules musculaires, le nombre de transporteurs GLUT4 et leur translocation des membranes intracellulaires vers la membrane plasmique chez des rats diabétiques. La captation cellulaire de glucose fut 50 % inférieure chez les rats diabétiques comparativement aux rats contrôles. Pour l'ensemble des membranes, le nombre total de transporteurs GLUT4 fut inférieur chez les rats diabétiques. La diminution relative des transporteurs GLUT4 intracellulaires, causée par leur translocation stimulée par l'insuline, fut similaire dans les deux groupes. Cependant, le nombre final des transporteurs GLUT4 présents sur la membrane plasmique fut 50 % inférieur chez les rats diabétiques. Ces résultats suggèrent que la diminution de la stimulation de l'insuline chez les rats diabétiques pourrait être due à un nombre inférieur de transporteurs GLUT4 opérant sur la membrane plasmique.

Chez l'humain, Yki-Jarvinen et al. (1992) ont étudié l'effet d'une perfusion d'insuline de 4 heures sur l'expression des ARNm et des protéines du transporteur GLUT4 dans les cellules musculaires des patients diabétiques. La quantité basale du transporteur GLUT4 fut similaire entre les deux groupes. En réponse à l'insuline, la quantité d'ARNm transcrit des transporteurs GLUT4 a subi une augmentation de 50 % alors que la quantité de protéines diminuait de 27 % chez les sujets sains. Aucun changement significatif ne fut observé chez les patients diabétiques. L'augmentation des ARNm et la diminution des protéines du transporteur GLUT4 furent corrélées au taux de captation du glucose par les cellules musculaires. Les auteurs ont conclu que la modulation de l'expression génique du transporteur GLUT4 par l'insuline pourrait être un des mécanismes sous-jacents de la résistance périphérique à l'action de l'insuline chez les patients diabétiques de type 1.

La contraction musculaire induit une translocation des transporteurs GLUT4 d'un pool intracellulaire vers la membrane plasmique. Cette translocation est quantitativement similaire à l'effet de l'insuline (Klip et al. (1992), bien que les transporteurs GLUT4 subissant la translocation stimulée par la contraction musculaire proviennent d'un pool intracellulaire distinct de ceux stimulés par l'insuline (Jensen et Goodyear (2005); Wijesekara et al. (2006)). Koivisto et al. (1993) rapportent qu'une période d'exercice de 3 heures, a diminué la concentration d'ARNm transcrit du transporteur GLUT4 de 30-45 % chez les patients diabétiques recevant de l'insuline comparativement à celle des sujets sains qui est demeurée inchangée. La concentration en protéines du transporteur GLUT4, quant à elle, est demeurée inchangée dans les deux groupes. La quantité basale du transporteur GLUT4 fut similaire entre les deux groupes, résultat similaire à celui obtenu par Yki-Jarvinen et al. (1992). Les auteurs suggèrent une production et/ou une dégradation anormales des ARNm des transporteurs GLUT4 chez les patients diabétiques durant une période d'exercice. Par ailleurs, les études chez les rats diabétiques montrent la capacité de la contraction musculaire à stimuler la captation cellulaire de glucose malgré une résistance à l'insuline sévère (Zierath et al. (2000)).

La littérature scientifique demeure controversée et le lien causal entre une anormalité du métabolisme glucidique, l'expression et la dégradation des ARNm ainsi que la quantité des transporteurs du glucose ne demeurent que spéculatives. Par ailleurs, à ma connaissance, aucune étude n'a comparé la capacité de la contraction musculaire seule (en l'absence totale d'insuline) à induire une translocation des transporteurs GLUT4 et une augmentation du captation cellulaire de glucose entre les patients diabétiques et les sujets sains. Cependant, la littérature scientifique montre clairement une diminution de la stimulation de la captation cellulaire de glucose par l'insuline dans le diabète de type 1 (Nuutila et al. (1993); Koivisto et al. (1993)).

Les résultats présentés dans cet ouvrage montrent soit une diminution (Raguso et al. (1995); Robitaille et al. (2007)), une similarité (Zinman et al. (1977); Simonson et al. (1984); Shilo et al. (1990); Raguso et al. (1995)) ou une augmentation (Zinman et al. (1977)) de la capacité des patients diabétiques recevant de l'insuline à utiliser le glucose circulant, qu'il soit exogène ou endogène, lors d'une période d'exercice (tableau 1.2). Ces différences dans l'oxydation du glucose circulant surviennent malgré la présence de concentrations plasmatiques d'insuline et de glucose supérieures chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. Les résultats de la présente étude, tout comme ceux de Raguso et al. (1995) concordent avec Koivisto et Yki-Jarvinen (1990) qui suggèrent une réduction ~40 % de la sensibilité à l'insuline chez les patients diabétiques. Ces résultats pourraient s'expliquer par un recrutement défectif des transporteurs GLUT4 découlant d'une résistance à l'insuline chez les patients diabétiques. Malheureusement, la mesure des GLUT4 n'a pas été faite lors de la présente étude.

Les résultats de cette étude tout comme ceux de Krzentowski et al. (1981) et Riddell et al. (2000) montrent un retard de l'oxydation du glucose exogène en début d'exercice chez les patients diabétiques; retard qui s'estompe au fur et à mesure que progresse l'exercice. Ces observations pourraient suggérer que la capacité de la contraction musculaire est fonctionnelle chez les patients diabétiques et que la translocation des GLUT4 et la captation du glucose sont retardées, car la translocation induite par l'insuline serait diminuée.

3.3.3 Contribution du glycogène musculaire à l'oxydation

Les résultats de la présente recherche montrent une utilisation supérieure du glycogène musculaire chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains, contrairement aux résultats de Raguso et al. (1995) et Standl et al. (1980). Même si ce résultat reste à être confirmé par d'autres méthodes, quelques éléments de discussion peuvent être identifiés. Selon la littérature, l'utilisation du glycogène musculaire est proportionnelle à la quantité présente dans le muscle (Hargreaves (2004)). Dans la présente étude, tout comme dans celle de Raguso et al. (1995), les quantités de glycogène musculaire pré exercice n'ont pas été évaluées. De plus, la translocation des GLUT4 semble augmenter lorsque les réserves de glycogène musculaire sont faibles (Hargreaves (2004)). Dans la présente étude, la diminution de la captation cellulaire de glucose observée chez les patients diabétiques pourrait provenir d'une inhibition de la translocation des GLUT4 par les réserves de glycogène musculaire. Actuellement, aucune donnée n'existe dans le diabète de type 1 pour confirmer ou infirmer cet énoncé. Tel que mentionné précédemment, la résistance à l'insuline caractérise les patients diabétiques. Celle-ci pourrait empêcher l'insuline de restreindre la glycogénolyse musculaire à l'exercice. Encore là, aucune donnée n'existe dans le diabète de type 1 pour confirmer ou infirmer cet énoncé. Par ailleurs, à ma connaissance, l'effet des différents effecteurs allostériques et des hormones sur la dégradation et l'utilisation du glycogène musculaire n'ont pas encore été caractérisés chez les patients diabétiques de type 1 à l'exercice. Cependant, chez les patients diabétiques, la diminution de la captation cellulaire de glucose, provoquant une diminution de la quantité intracellulaire de glucose-6-phosphate, peut avoir accentué la dégradation du glycogène musculaire comparativement aux sujets sains. Bien que spéculés, tous ces points restent à investiguer.

3.4 PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Suite aux résultats obtenus dans la présente étude et aux données de la littérature scientifique, les perspectives de recherche se divisent en deux voies principales: les améliorations pouvant être apportées au protocole expérimental et les répercussions des résultats sur les recommandations faites aux patients diabétiques pour contrer les hypoglycémies induites par l'exercice.

3.4.1 Améliorations au protocole expérimental

Pour clarifier les contributions relatives des lipides et des diverses sources de glucose utilisées lors d'une période d'exercice prolongé d'intensité modérée suivant l'ingestion de glucose chez les patients diabétiques et les sujets sains, deux points principaux devraient être apportés au protocole expérimental. Premièrement, les résultats recueillis concernant l'utilisation du glucose exogène lors d'un exercice prolongé et d'intensité modérée demeurent discutables. En effet, la présente étude ainsi que celle de Riddell et al. (2000) ont montré que la quantité totale de glucose exogène oxydé tend à être inférieure chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. De plus, bien qu'ayant rapporté une quantité similaire de glucose exogène oxydé, Krzentowski et al. (1981) ont rapporté une oxydation inférieure du glucose exogène en début d'exercice. L'absence de conclusion claire concernant l'utilisation du glucose exogène lors d'un exercice prolongé d'intensité modérée chez les patients diabétiques et les sujets sains peut être le résultat d'un nombre trop restreint de sujets composant les groupes expérimentaux (6-8 sujets). Une étude similaire devrait être conduite avec un plus grand nombre de sujets pour établir clairement une similarité ou une différence significative sur l'utilisation du glucose exogène. Deuxièmement, en vue d'argumenter la faible oxydation du glucose circulant et la grande contribution de la glycogénolyse chez les patients diabétiques, des biopsies musculaires pourraient être prises

avant, pendant et après la période d'exercice en vue de quantifier les GLUT4 présents sur la membrane plasmique. La quantification des GLUT4 couplée à l'oxydation du glucose circulant et aux concentrations plasmatiques d'insuline et de glucose aiderait à clarifier les mécanismes responsables de cette faible oxydation du glucose circulant chez les patients diabétiques. De plus, la quantification des réserves de glycogène, d'intermédiaires clés et l'activité enzymatique de la glycogène synthétase et phosphorylase permettraient de clarifier certaines interrogations soulevées précédemment. Une fois les mécanismes responsables de ces perturbations métaboliques élucidés, il sera plus facile de comprendre et d'élaborer des recommandations afin de réduire les hypoglycémies induites par l'exercice.

3.4.2 Hypoglycémie induite par l'exercice

Les hypoglycémies constituent les risques et les craintes les plus répandus chez les patients diabétiques de type 1. La consommation d'un supplément glucidique est fréquemment conseillée aux patients diabétiques afin d'éviter les hypoglycémies induites par l'exercice. Les données recueillies suggèrent une utilisation retardée du glucose exogène ingéré avant ou pendant une période d'exercice chez les patients diabétiques comparativement aux sujets sains. De ce fait, les recommandations concernant le temps séparant l'ingestion du supplément glucidique et la période d'exercice pourraient être revues. En effet, il pourrait être profitable pour les patients diabétiques de devancer l'ingestion de la collation glucidique afin de palier au délai observé entre l'absorption et l'oxydation du glucose exogène chez ces derniers.

BIBLIOGRAPHIE

1. Arkinstall, M.J., Bruce, C.R., Nikolopoulos, V., Garnham, A.P., Hawley, J.A. (2001) "Effect of carbohydrate ingestion on metabolism during running and cycling", *J Appl Physiol* 91: 2125-34.
2. Bowtell, J.L., Leese, G.P., Smith, K., Watt, P.W., Nevill, A., Rooyackers, O., Wagenmakers, A.J., Rennie, M.J. (2000) "Effect of oral glucose on leucine turnover in human subjects at rest and during exercise at two levels of dietary protein", *J Physiol* 525: 271-81.
3. Brooks, G.A., Mercier, J. (1994) "Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept", *J Appl Physiol* 76: 2253-61.
4. Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert Committee. (2003) "Canadian Diabetes Association 2003 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada", *Can J Diabetes* 27(suppl 2): S1-S152.
5. Coggan, A.R. (1999) "Use of stable isotopes to study carbohydrate and fat metabolism at the whole-body level", *Proc Nutr Soc* 58: 953-961.
6. Couture, S., Massicotte, D., Lavoie, C., Hillaire-Marcel, C., Péronnet, F. (2002) "Oral [¹³C]glucose and endogenous energy substrate oxidation during prolonged treadmill running", *J Appl Physiol* 92: 1255-60.
7. Dubé, M.C., Weisnagel, S.J., Prud'Homme, D., Lavoie, C. (2005) "Exercise and newer insulins: how much glucose supplement to avoid hypoglycemia?", *Med Sci Sports Exerc* 37:1276-1282.
8. Febbraio, M.A., Keenan, J., Angus, D.J., Campbell, S.E., Garnham, A.P. (2000) "Preexercise carbohydrate ingestion, glucose kinetics, and muscle glycogen use: effect of the glycemic index", *J Appl Physiol* 89: 1845-51.
9. Flakoll, P.J., Carlson, M.G., Cherrington, A.D. (2000) "Physiologic Action of Insulin", *Diabetes Mellitus. A Fundamental and Clinical Text*, Second edition, Editors LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, U.S.A., pp. 148-160.
10. Francescato, M.P., Geat, M., Fusi, S., Stupar, G., Noacco, C., Cattin, L. (2004) "Carbohydrate requirement and insulin concentration during moderate exercise in type 1 diabetic patients", *Metabolism* 53: 1126-30.

11. Garhammer, J. (1993) "A review of power output studies of olympic and powerlifting: methodology, performance prediction, and evaluation test", Journal of Strength and Conditioning Research 7: 76-89.
12. Hargreaves M (2004) "Muscle glycogen and metabolic regulation" Proceedings of the Nutrition Society 63: 217-220.
13. Horton, E.S. (2000) "Exercise for Patients with Type 1 Diabetes Mellitus", Diabetes Mellitus. A Fundamental and Clinical Text, Second edition, Editors LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, U.S.A., pp. 481-488.
14. Jensen, N., Goodyear, L.J. (2005) "Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle", J Appl Physiol 99:330-7.
15. Jeukendrup, A., Gleeson, M. (2005) "Sport nutrition: An introduction to energy production and performance", Human Kinetics, Champaign, IL, U.S.A.
16. Jeukendrup, A.E., Wallis, G.A. (2005) "Measurement of substrate oxidation during exercise by means of gas exchange measurements", Int J Sports Med 26: S28 - S37.
17. Jeukendrup, A.E. (2003) "Modulation of carbohydrate and fat utilization by diet, exercise and environment", Biochem Soc Trans 31: 1270-3.
18. Jeukendrup, A.E., Jentjens, R. (2000) "Oxidation of carbohydrate feedings during prolonged exercise: current thoughts, guidelines and directions for future research", Sports Med 29: 407-24.
19. Jeukendrup, A.E., Saris, W.H., Schrauwen, P., Brouns, F., Wagenmakers, A.J. (1995) "Metabolic availability of medium-chain triglycerides coingested with carbohydrates during prolonged exercise", J Appl Physiol 79: 756-62.
20. Kiens, B. (2006) "Skeletal muscle lipid metabolism in exercise and insulin resistance", Physiol Rev 86: 205-43.
21. Klip, A., Marette, A., Dimitrakoudis, D., Ramlal, T., Giacca, A., Shi, Z.Q., Vranic, M. (1992) "Effect of diabetes on glucoregulation. From glucose transporters to glucose metabolism in vivo", Diabetes Care 15:1747-66.
22. Klip, A., Paquet, M.R. (1990) "Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation", Diabetes Care 13:228-43.

23. Koivisto, V.A., Bourey, R.E., Vuorinen-Markkola, H., Koranyi, L. (1993) "Exercise reduces muscle glucose transport protein (GLUT-4) mRNA in type 1 diabetic patients", *J Appl Physiol* 74:1755-60.
24. Koivisto, V.A., Yki-Yarvinen, H. (1990) "Changes in muscle glucose metabolism in type 1 diabetes", *Ann Med* 22: 201-5.
25. Koopman, R., Pannemans, D.L., Jeukendrup, A.E., Gijsen, A.P., Senden, J.M., Halliday, D., Saris, W.H., van Loon, L.J., Wagenmakers, A.J. (2004) "Combined ingestion of protein and carbohydrate improves protein balance during ultra-endurance exercise", *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287: E712-20.
26. Krzentowski, G., Pirnay, F., Pallikarakis, N., Luyckx, A.S., Lacroix, M., Mosora, F., Lefebvre, P.J. (1981) "Glucose utilization during exercise in normal and diabetic subjects. The role of insulin", *Diabetes* 30: 983-989.
27. Lavoie, C., Ducros, F., Bourque, J., Langelier, H., Chiasson, J.L. (1997) "Glucose metabolism during exercise in man: the role of insulin in the regulation of glucose utilization", *Can J Physiol Pharmacol* 75:36-43.
28. Lemon, P.W., Mullin, J.P. (1980) "Effect of initial muscle glycogen levels on protein catabolism during exercise", *J Appl Physiol* 48: 624-9.
29. Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P. (2004) "Molecular cell biology", W.H. Freeman and Company, New-York, U.S.A.
30. McArdle, W.D., Katch, F.I., Katch, V.I. (2001) "Physiologie de l'exercice: Nutrition, exercice et performance", Maloine, Edisem, Paris, France.
31. Moy, C.S., Songer, T.J., LaPorte, R.A., Dorman, J.S., Kriska, A.M., Orchard, T.J., Becker, D.J., Drash, A.L. (1993) "Insulin-dependent diabetes mellitus, physical activity and death", *Am J Epidemiology* 137: 74-81.
32. Murray, F.T., Zinman, B., McClean, P.A., Denoga, A., Albisser, A.M., Leibel, B.S., Nakhooda, A.F., Stokes, E.F., Marliss, E.B. (1977) "The metabolic response to moderate exercise in diabetic man receiving intravenous and subcutaneous insulin", *J Clin Endocrinol Metab* 44: 708-20.
33. Nathan, D.M., Madnek, S.F., Delahanty, L. (1985) "Programming pre-exercise snacks to prevent post-exercise hypoglycemia in intensively treated insulin-dependent diabetics", *Ann Intern Med* 102: 483-486.

34. Nuutila, P., Knuuti, J., Ruotsalainen, U., Koivisto, V.A., Eronen, E., Teräs, M., Bergman, J., Haaparanta, M., Voipio-Pulkki, L.M., Viikari, J. (1993) "Insulin resistance is localized to skeletal but not heart muscle in type 1 diabetes", Am J Physiol. 264: E756-62.
35. Pallikarakis, N., Sphiris, N., Lefebvre, P. (1991) "Influence of the bicarbonate pool and on the occurrence of $^{13}\text{CO}_2$ in exhaled air", Eur J Appl Physiol Occup Physiol 63: 179-183.
36. Peronnet, F., Rheaume, N., Lavoie, C., Hillaire-Marcel, C., Massicotte, D. (1998) "Oral [^{13}C]glucose oxidation during prolonged exercise after high- and low-carbohydrate diets", J Appl Physiol 85: 723-30.
37. Peronnet, F., Massicotte, D. (1991) "Table of nonprotein respiratory quotient: an update", Can J Sport Sci 16: 23-9.
38. Peronnet, F., Massicotte, D., Brisson, G., Hillaire-Marcel, C. (1990) "Use of ^{13}C substrates for metabolic studies in exercise: methodological considerations", J Appl Physiol 69: 1047-52.
39. Raguso, C.A., Coggan, A.R., Gastaldelli, A., Sidossis, L.S., Bastyr, E.J., Wolfe, R.R. (1995) "Lipid and carbohydrate metabolism in IDDM during moderate and intense exercise", Diabetes 44: 1066-74.
40. Ramires, P.R., Forjaz, C.L., Strunz, C.M., Silva, M.E., Diament, J., Nicolau, W., Liberman, B., Negrão, C.E. (1997) "Oral glucose ingestion increases endurance capacity in normal and diabetic (type I) humans", J Appl Physiol 83: 608-14.
41. Rennie, M., Bohe, J., Smith, K., Wackerhage, H., Greenhaff, P. (2006) "Branched-chain amino acids as fuels and anabolic signals in human", J Nutr 136: 264S-8S.
42. Riddell, M.C., Bar-Or, O., Hollidge-Horvat, M., Schwarcz, H.P., Heigenhauser, G.J. (2000) "Glucose ingestion and substrate utilization during exercise in boys with IDDM", J Appl Physiol 88: 1239-1246.
43. Robitaille, M., Dubé, M.C., Weisnagel, S.J., Prud'homme, D., Massicotte, D., Peronnet, F., Lavoie, C. (2007) "Substrate source utilisation during moderate exercise with ^{13}C -glucose ingestion in type 1 diabetic patients" J Appl Physiol.
44. Romijn, J.A., Coyle, E.F., Sidossis, L.S., Gastaldelli, A., Horowitz, J.F., Endert, E., Wolfe, R.R. (1993) "Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration", Am J Physiol 265: E380-91.

45. Sane, T., Helve, E., Pelkonen, R., Koivisto, V.A. (1988) "The adjustment of diet and insulin dose during long-term endurance exercise in type I (insulin-dependent) diabetic men", *Diabetologia* 31: 35-40.
46. Satabin, P., Portero, P., Defer, G., Bricout, J., Guezennec, C.Y. (1987) "Metabolic and hormonal responses to lipid and carbohydrate diets during exercise in man", *Med Sci Sports Exerc* 19: 218-23.
47. Shilo, S., Sotsky, M., Shamoon, H. (1990) "Islet hormonal regulation of glucose turnover during exercise in type 1 diabetes", *J Clin Endocrinol Metab* 70: 162-172.
48. Simonson, D.C., Koivisto, V., Sherwin, R.S., Ferrannini, E., Hendler, R., Juhlin-Dannfelt, A., DeFronzo, R.A. (1984) "Adrenergic blockade alters glucose kinetics during exercise in insulin-dependent diabetics", *J Clin Invest* 73: 1648-1658.
49. Standl, E., Lotz, N., Dexel, T., Janka, H.U., Kolb, H.J. (1980) "Muscle triglycerides in diabetic subjects. Effect of insulin deficiency and exercise", *Diabetologia* 18: 463-469.
50. Trimmer, J.K., Schwarz, J.M., Casazza, G.A., Horning, M.A., Rodriguez, N., Brooks, G.A. (2002) "Measurement of gluconeogenesis in exercising men by mass isotopomer distribution analysis", *J Appl Physiol* 93: 233-41.
51. Tremblay, F., Dubois, M.J., Marette, A. (2003) "Regulation of GLUT4 traffic and function by insulin and contraction in skeletal muscle", *Front Biosci* 8: d1072-84.
52. Tsintzas, O.K., Williams, C. (1998) "Human muscle glycogen metabolism during exercise. Effect of carbohydrate supplementation", *Sports Med* 25: 7-23.
53. Van Hall, G., Saltin, B., Wagenmakers, A.J. (1999) "Muscle protein degradation and amino acid metabolism during prolonged knee-extensor exercise in humans", *Clin Sci (Lond)* 97: 557-67.
54. van Hamont, D., Harvey, C.R., Massicotte, D., Frew, R., Peronnet, F., Rehrer, N.J. (2005) "Reduction in muscle glycogen and protein utilization with glucose feeding during exercise", *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 15: 350-65.
55. van Loon, L.J., Greenhaff, P.L., Constantin-Teodosiu, D., Saris, W.H., Wagenmakers, A.J. (2001) "The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans", *J Physiol* 536: 295-304.

56. Van Zyl, C.G., Lambert, E.V., Hawley, J.A., Noakes, T.D., Dennis, S.C. (1996) "Effects of medium-chain triglyceride ingestion on fuel metabolism and cycling performance", *J Appl Physiol* 80: 2217-25.
57. Wagenmakers, A.J. (1999) "Tracers to investigate protein and amino acid metabolism in human subjects", *Proc Nutr Soc* 58: 987-1000.
58. Wagenmakers, A.J. (1998) "Protein and amino acid metabolism in human muscle", *Adv Exp Med Biol* 441: 307-19.
59. Wahren, J., Hagenfeldt, L., Felig, P. (1975) "Splanchnic and leg exchange of glucose, amino acids, and free fatty acids during exercise in diabetes mellitus", *J Clin Invest* 55:1303-14.
60. Wasserman DH (1995) "Regulation of glucose fluxes during exercise in the postabsorptive state" *Annu Rev Physiol* 57:191-218.
61. Wasserman, D.H., Zinman, B. (1994) "Exercise in individuals with IDDM", *Diabetes Care* 17: 924-37.
62. Wei, M., Gibbons, L.W., Kampert, J.B., Nichaman, M.Z., Blair, S.N. (2000) "Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 Diabetes", *Ann Intern Med* 132: 605-611.
63. Wijesekara, N., Tung, A., Thong, F., Klip, A. (2006) "Muscle cell depolarization induces a gain in surface GLUT4 via reduced endocytosis independently of AMPK", *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290:E1276-86.
64. Williams, B.D., Wolfe, R.R., Bracy, D.P., Wasserman, D.H. (1996) "Gut proteolysis contributes essential amino acids during exercise", *Am J Physiol* 270: E85-90.
65. Wolfe, R.R., George, S. (1993) "Stable isotopic tracers as metabolic probes in exercise", *Exerc Sport Sci Rev* 21: 1-31.
66. Yki-Jarvinen, H., Vuorinen-Markkola, H., Koranyi, L., Bourey, R., Tordjman, K., Mueckler, M., Permutt, A.M., Koivisto, V.A. (1992) "Defect in insulin action on expression of the muscle/adipose tissue glucose transporter gene in skeletal muscle of type 1 diabetic patients", *J Clin Endocrinol Metab* 75: 795-9.
67. Zierath, J.R., Krook, A., Wallberg-Henriksson, H. (2000) "Insulin action and insulin resistance in human skeletal muscle", *Diabetologia* 43: 821-35.
68. Zinman, B., Murray, F.T., Vranic, M., Albisser, A.M., Leibel, B.S., Mc Clean, P.A., Marliss, E.B. (1977) "Glucoregulation during moderate exercise in insulin treated diabetics", *J Clin Endocrinol Metab* 45: 641-652.