



HAL
open science

Thérapie par l'exercice et dystrophie facio-scapulo-humérale : étude contrôlée randomisée de 6 mois d'entraînement à domicile : précédée d'une étude histologique du potentiel régénératif musculaire dans deux modèles distincts de myopathies

Sénakpon Landry Cyrille Bankolé

► To cite this version:

Sénakpon Landry Cyrille Bankolé. Thérapie par l'exercice et dystrophie facio-scapulo-humérale : étude contrôlée randomisée de 6 mois d'entraînement à domicile : précédée d'une étude histologique du potentiel régénératif musculaire dans deux modèles distincts de myopathies. Médecine humaine et pathologie. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, 2014. Français. NNT : 2014STET008T . tel-01315157

HAL Id: tel-01315157

<https://theses.hal.science/tel-01315157>

Submitted on 12 May 2016

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

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

UNIVERSITÉ JEAN MONNET SAINT ETIENNE

Faculté de Médecine Jacques LISFRANC
Ecole Doctorale : SCIENCES, INGENIERIE, SANTE
Laboratoire de Physiologie de l'Exercice (EA 4338)

THÈSE DE SCIENCES

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat

Domaine : Biologie Médecine Santé
Spécialité : Biologie et Physiologie de l'Exercice

Thérapie par l'Exercice et Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale

Etude contrôlée randomisée de 6 mois d'entraînement à domicile.
Précédée d'une étude histologique du potentiel régénératif musculaire
dans deux modèles distincts de myopathies.

présentée et soutenue publiquement par

Sénakpon Landry Cyrille BANKOLÉ

Le Lundi 27 Octobre 2014

Directeurs de thèse :

Dr Léonard FÉASSON, MCU-PH, HDR, Université Jean Monnet, St Etienne

Pr Fawzi KADI, PU, Université d'Örebro, Suède

Pr Guillaume MILLET, PU, Université de Calgary, Canada

Jury composé de :

Pr Sabrina SACCONI, PU-PH, Université de Nice-Sophia-Antipolis, Rapporteur

Dr Daniel BECHET, DR-HDR, INRA-Theix, Rapporteur

Dr Julie DUMONCEAUX, DR-HDR, Université Paris VI, Examineur

Dr Julien VERNEY, MCF, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, Examineur

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS	5
INTRODUCTION	7
1^{ERE} PARTIE - REVUE DE LITTÉRATURE	10
I. ORGANISATION DU MUSCLE SQUELETTIQUE	11
A. ORGANISATION STRUCTURALE	11
1. <i>Structure du muscle</i>	11
2. <i>Structure de la fibre musculaire</i>	11
3. <i>Structure des myofibrilles</i>	12
4. <i>Unités motrices et types de fibres</i>	13
B. ORGANISATION FONCTIONNELLE ET BIOMÉCANIQUE.....	15
1. <i>Fonction contractile du muscle</i>	15
2. <i>Expressions biomécaniques de la contraction musculaire</i>	15
II. DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET RÉGÉNÉRATION MUSCULAIRE	20
A. MYOGENÈSE PRÉNATALE	20
1. <i>Origine somitique des muscles</i>	20
2. <i>Myogenèse et expression des facteurs myogéniques</i>	21
3. <i>Les phases de la myogenèse pré-natale</i>	24
B. RÉGÉNÉRATION DU MUSCLE SQUELETTIQUE STRIÉ.....	26
1. <i>Cellules satellites : Principale source de régénération</i>	26
2. <i>Étude des cellules satellites</i>	28
3. <i>Rôles et mécanismes d'auto-renouvellement des cellules satellites</i>	29
4. <i>Cellules satellites et maladies neuromusculaires</i>	32
III. ADAPTATION DE LA FONCTION MUSCULAIRE À L'EXERCICE	33
A. DIFFÉRENTS TYPES D'EXERCICES	33
1. <i>Exercice en résistance</i>	33
2. <i>Exercice aérobie</i>	34
B. CONTRAINTES MÉCANIQUES LIÉES À L'EXERCICE.....	35
1. <i>Les courbatures : Un modèle de contraintes imposées au muscle</i>	35
2. <i>L'exercice excentrique et les dommages musculaires</i>	36
3. <i>Les marqueurs de dommages musculaires</i>	37
4. <i>Plasticité structurale aux courbatures</i>	38
C. ADAPTATIONS À L'EXERCICE	40
1. <i>Adaptations musculaires</i>	40
2. <i>Adaptations nerveuses</i>	42
3. <i>Adaptations métaboliques</i>	43
4. <i>Adaptations systémiques</i>	45

IV. FATIGUE NEUROMUSCULAIRE ET QUALITÉ DE VIE	48
A. FATIGUE NEUROMUSCULAIRE.....	48
1. Définitions.....	48
2. Mécanismes.....	49
B. EXPLORATIONS DE LA FATIGUE NEUROMUSCULAIRE.....	51
1. Principes d'exploration.....	51
2. Outils d'exploration.....	54
3. Autres outils d'évaluation de la fatigue: Echelle de sévérité de la fatigue (FSS)	55
C. NOTION DE QUALITÉ DE VIE ET OUTILS D'ÉVALUATION.....	55
1. Définitions.....	56
2. Outils d'évaluations.....	56
V. PATHOLOGIES MUSCULAIRES ET EXERCICE.....	58
A. THÉRAPIE PAR L'EXERCICE ET MYOPATHIES	59
1. Intérêt de l'exercice dans les myopathies	59
2. Nécessité d'un travail physique encadré	59
3. Les modalités envisageables de l'exercice.....	60
B. CAS DE LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE.....	61
1. Description.....	61
2. Physiopathologie.....	64
3. Répercussions fonctionnelles et thérapeutiques	69
2^{ÈME} PARTIE - CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES	72
INTERÊTS ET OBJECTIFS SCIENTIFIQUES.....	73
ETUDE I : EVALUATION DU CONTENU EN CELLULES SATELLITE RAPPORTE AU TYPE DE FIBRE DANS DEUX MODELES DE MALADIES MUSCULAIRES.....	76
1. Introduction et objectifs	77
2. Méthodologie	77
3. Résultats - Discussion	78
4. Conclusion	79
ARTICLE 1 - FIBRE TYPE-SPECIFIC SATELLITE CELL CONTENT IN TWO MODELS OF MUSCLE DISEASE.....	79
ETUDE II : EVALUATION DE LA FORCE ET DE LA FATIGUE DU QUADRICEPS PAR STIMULATION MAGNETIQUE DU NERF FEMORAL DANS LES MYOPATHIES ET NEUROPATHIES.....	88
1. Introduction et objectifs	89
2. Methodologie	89
3. Resultats – Discussion	92
4. Conclusion	93

ARTICLE 2 - QUADRICEPS STRENGTH ET FATIGUE ASSESSED BY FEMORAL NERVE MAGNETIC STIMULATION IN MYOGENIC ET NEUROGENIC DISORDERS	93
ETUDE III : THERAPIE PAR L'EXERCICE DANS LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMERALE	105
A. THERAPIE PAR L'EXERCICE ET FSHD	106
1. <i>Justification du choix de la FSHD</i>	106
2. <i>Intérêts d'une étude integrative</i>	107
B. PRESENTATION DE L'ÉTUDE.....	107
1. <i>Etude contrôlée et randomisée sur 6 mois</i>	107
2. <i>Recrutement des patients</i>	110
3. <i>Procédures expérimentales</i>	111
4. <i>Contenu du programme d'entraînement</i>	113
5. <i>Évaluations réalisées pendant la période d'entraînement</i>	115
MANUSCRIT DE L'ARTICLE 3 - SAFETY AND EFFECTIVENESS OF 6-MONTH HOME-BASED EXERCISE THERAPY IN FACIOSCAPULOHUMERAL MUSCULAR DYSTROPHY: A RANDOMIZED, CONTROLLED TRIAL.....	119
C. RÉSULTATS ET DISCUSSION GENERALE DE L'ETUDE III	145
1. <i>Adhérence au programme d'entraînement</i>	145
2. <i>Innocuité du programme d'entraînement</i>	145
3. <i>Effets de l'entraînement sur les capacités aérobies</i>	146
4. <i>Effets de l'entraînement sur la force musculaire</i>	148
5. <i>Effets de l'entraînement sur la fatigue, l'endurance et la fonction motrice</i>	149
D. CONCLUSION	151
E. PERSPECTIVES	153
1. <i>Perspectives sur l'entraînement encadré à moyen terme (6 mois)</i>	153
2. <i>Perspectives sur l'auto - entraînement à long terme (30 mois)</i>	154
PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES	183
A. PUBLICATIONS ISSUES DES TRAVAUX DE THÈSE	183
B. COMMUNICATIONS ORALES ET AFFICHÉES.....	183
ANNEXES.....	185
ANNEXE 1 : BANKOLÉ LC & FÉASSON L, 2011. J RÉAD MED.....	186
ANNEXE 2 : ECHELLE D'ETAT DE SANTE SF-36	196
ANNEXE 3 : ECHELLE DE SEVERITE DE LA FATIGUE (FSS).....	199
ANNEXE 4 : EVA – FATIGUE / DOULEUR	200
ANNEXE 5 : ANALYSES HISTOLOGIQUES, IMMUNOHISTOLOGIQUES ET ENZYMATIQUES.....	201
ANNEXE 6 : FICHE D'ENTRAINEMENT.....	213

ABRÉVIATIONS

1-RM : Charge maximale pouvant être soulevée une fois.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AMP : Adénosine monophosphate.

AMPK : protéine kinase activée par l'AMP (AMP-activated protein kinase).

ANT1 : Adénine nucléotide translocator 1

AP : Activité physique.

APA : Activité physique adaptée.

ARN : Acide ribonucléique.

ARNm : Acide ribonucléique messager.

ATP : Adénosine triphosphate.

% AV : pourcentage d'activation maximale volontaire.

BMP: Bone Morphogenic Proteins

CK : Créatine phosphokinase.

CMV : Contraction maximale volontaire.

CMT : Charcot – Marie – Tooth.

COX : Cytochrome-c oxydase.

CS : Citrate synthase.

CSA : Surface de section transversale.

Db₁₀ : Doublets potentiés à 10 Hz

Db₁₀₀ : Doublets potentiés à 100 Hz

DHP : Dihydropyridine.

DM/PM : Dermatomyosite/polymyosite.

DMD : Dystrophie Musculaire de Duchenne.

DOMS : Courbature (Delayed onset muscle soreness).

ECG : Electrocardiogramme.

EFR : Explorations fonctionnelles respiratoires.

EFx : Epreuve d'effort maximale sur ergocycle.

EMG : Électromyographie.

ES : Electrostimulation.

EVA : Echelle visuelle analogue.

FC_{max} : Fréquence cardiaque maximale.

FISH : Fluorescence in situ hybridization.

FSHD : Dystrophie facio scapulo humérale.

IMC : Indice de masse corporelle.

IRM : Imagerie par résonance magnétique.

LDH : Lactate déshydrogénase.

mATPase : Adénosinetriphosphatase myofibrillaire.

Mb : Myoglobine.

MDSC : Muscle derived stem cells.

MHC : Chaînes lourdes de myosine (Myosin Heavy Chain).

MNM (s) : Maladies Neuromusculaire(s).

MRFs : Facteurs de régulation myogéniques (Myogenic Regulator Factors).

MRF4 : Myogenic regulatory factor 4.

Myf5 : Myogenic factor 5.

MyoD : Determination myogenic factor.

NCAM : Molécule d'adhésion des cellules neurales (Neural Cell Adhesion Molecule).

PA : Potentiel d'action.

PDH : Pyruvate déshydrogénase.

PFK : Phosphofructokinase.

PMA ou MAP: Puissance maximale aérobie.

QdV : Qualité de vie.

QIF test : Quadriceps intermittent force test.

Rpm : Nombre de révolutions par minute.

RMS : Roots Mean Square.

RyR : Ryanodine.

SC(s) : Cellule(s) satellite(s) (Satellite Cell)

SDH : Succinate déshydrogénase.

SF - 36 : Short form health survey in 36 items

Shh: Facteurs Sonic Hedgehog.

SM: Stimulation magnétique.

Spectro-RMN : Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire.

TGF-β : Facteur de croissance transformant β (Transforming Growth Factor-β)

TM-6 : Test de marche de 6 minutes.

Tw : Single twitch ou simple secousse

Tw_p : Twitch potentié

UMs : Unités motrices (motor units).

VCAM : Vascular cell adhesion molecule.

VESmax : Volume d'éjection systolique maximal.

Vmax : Vitesse maximale

VO₂max / **VO₂pic** : Consommation maximale
d'oxygène / pic de consommation d'oxygène.

Wnt: Wingless.

INTRODUCTION

C'est en 1868, par un procédé d'électrisation musculaire (précurseur de l'électromyographie moderne) que le docteur Guillaume Duchenne de Boulogne a réalisé pour la première fois, la description médicale d'une myopathie (maladie musculaire) chez un jeune garçon présentant un déficit moteur le conduisant à une perte rapide de la marche au cours d'un processus de « paralysie progressive pseudohypertrophique » (Duchenne (de Boulogne), 1868). Depuis, ce sont plusieurs centaines d'autres étiologies de maladies musculaires qui ont été décrites grâce aux progrès scientifiques. Le terme « myopathie » est utilisé pour désigner un ensemble de maladies conduisant le plus souvent à une dégénérescence des muscles et responsables de la perte des mouvements. On distingue deux grands groupes de myopathies. Les myopathies d'origine génétique et les myopathies inflammatoires acquises. Dans leur vaste majorité, elles restent encore incurables et présentent des caractéristiques communes de perte progressive de la force et de la masse musculaire associées à l'installation d'une fatigue ; ce qui justifie d'une attention particulière de la recherche.

La masse musculaire est fortement associée à la fonction motrice et donc à la réalisation des tâches quotidiennes et à l'autonomie d'une personne. Depuis l'étude de Mauro (1961), sur l'identification des cellules satellites (SCs *pour Satellite Cells*) dans le muscle squelettique, de nombreuses études ont été réalisées pour mieux comprendre leur origine, leur fonctionnement et leur implication dans la régulation de la masse musculaire (Mauro, 1961). Le contenu en SCs est reconnu comme un paramètre impliqué dans la croissance, le maintien ou l'atrophie musculaire. Chez l'homme sain, la masse musculaire et le contenu en SCs semblent ne subir aucune variation significative chez les sujets jeunes et adultes (Shefer et al., 2010; Verdijk et al., 2014). A l'inverse, ces paramètres tissulaires sont altérés chez le sujet âgé. De plus, la réduction du contenu en SCs dans le muscle du sujet âgé, spécifiquement dans les fibres de type II est en relation avec la perte de masse musculaire illustrée par une réduction spécifique du calibre des fibres de type II (Verdijk et al., 2007; Verney et al., 2006). Si les mécanismes cellulaires qui soutendent l'atrophie musculaire dans les situations physiologiques normales chez le sujet sain sont assez bien documentés, leur compréhension reste encore floue dans les myopathies. Dans ce cadre, qu'en est-il de la relation liant l'atrophie musculaire et le contenu

du muscle en SCs ? Existe-t-il un changement du contenu en cellules satellites type de fibre-dépendant ?

L'altération de la fonction musculaire au cours des myopathies participe à l'apparition d'une importante fatigue ressentie au cours de l'effort (Bradley and Kelemen, 1979). Chez les patients atteints de dystrophie facio scapulo humérale (FSHD), cette fatigue apparaît avec une altération de la santé physique, mentale et de la qualité de vie, particulièrement lorsque les patients sont comparés aux sujets sains (Kalkman et al., 2005; Voet et al., 2010b). La fatigue ressentie devient ainsi, un des symptômes les plus handicapants chez ces patients (Kalkman et al., 2005). Chez le sujet sain, des outils d'évaluation de la fatigue neuromusculaire, basés sur l'utilisation de l'électrostimulation nerveuse ont été validés. Plus, récemment, l'usage de la stimulation magnétique, a également fait ses preuves et semble être aussi efficace que l'électrostimulation tout en étant mieux tolérée par le sujet (Verges et al., 2009a). A l'inverse chez le sujet myopathe, il n'existe pas d'outil objectif et fiable, de mesure de la fatigue. Dans le souci d'objectiver précisément la fatigue ou la capacité de résistance de son apparition, le recours à un protocole standardisé utilisant la contraction volontaire et la stimulation nerveuse surimposée peut-il être validé dans l'évaluation de l'endurance musculaire de patients myopathes ?

Dans le cadre des myopathies, où la fatigue quotidienne se fait de plus en plus ressentir, il a longtemps été question de proscrire l'activité physique (AP) et particulièrement chez le patient dystrophique, par crainte d'une éventuelle aggravation de la fatigue et du processus physiopathologique de la maladie. Or, la fatigue quotidienne ressentie au fil des années associée à cette restriction, conduit les patients vers un cercle vicieux d'inactivité, ce qui favorise l'amyotrophie. Mais, ce principe de précaution a été remis en cause, au regard des effets bénéfiques reconnus de l'AP (Berthouze et al., 1995; Roberge, 1992; Vico et al., 1995), et surtout des effets négatifs de la sédentarité sur le muscle et la santé en générale (Feasson et al., 2010b). Depuis, la place du reconditionnement par l'effort dans les myopathies a été au coeur d'un nombre croissant de travaux scientifiques montrant, l'innocuité de l'activité physique adaptée (APA) aux myopathies y compris dans les dystrophies musculaires (Cup et al., 2007; Orngreen et al., 2005; van der Kooi et al., 2004). Cependant, peu d'études randomisées et/ou contrôlées, de niveau de preuve satisfaisant ont été rapportées dans la littérature. Et en raison de la grande disparité des myopathies, les modalités de l'APA devraient être ajustées en fonction de chaque étiologie en respectant les limites de tolérance du muscle malade selon le processus physiopathologique. Pourtant, la majeure partie des

études, associe plusieurs types de myopathies en raison de leur rareté. Certes, ces travaux rapportent des effets bénéfiques réels de l'exercice mais ces gains sont obtenus sur des périodes restreintes (un à trois mois) et pour la plupart sont réalisés dans des conditions étroitement supervisées en laboratoire. Ajouté à cela, un manque fréquent d'évaluation de la qualité de vie ne permet pas d'apprécier le ressenti personnel des patients par rapport aux contraintes de l'exercice ou de l'étude elle - même. Enfin, la littérature est dépourvue de données sur l'évolution de la qualité du muscle myopathe et ses capacités régénératives sous l'effet de l'entraînement.

Ce manuscrit s'articule en deux parties. Dans un premier temps, nous réalisons une revue de la littérature sur le muscle, ses capacités régénératives et sa plasticité dans le cadre de l'exercice puis, nous abordons les possibilités d'activités physiques adaptées dans les myopathies et plus spécifiquement dans la FSHD, avec les raisons justifiant son choix pour une application de thérapie par l'exercice. Dans la seconde partie, nous exposerons nos contributions scientifiques en essayant de répondre aux différentes interrogations au travers de trois études : 1) l'analyse du contenu en cellules satellites et leur capacité régénérative dans deux processus myopathiques aussi distincts qu'opposés : dystrophie *versus* myosite ; 2) la validation d'un outil de mesure de la force et de résistance à la fatigue neuromusculaire dans la FSHD et 3) une étude contrôlée randomisée de thérapie par l'exercice sur 6 mois et à domicile dans la FSHD.

1^{ERE} PARTIE - REVUE DE LITTÉRATURE

I. ORGANISATION DU MUSCLE SQUELETTIQUE

Dans ce premier chapitre, nous rappelons quelques généralités sur la structure et la physiologie du muscle squelettique strié ainsi que les mécanismes de contraction mis en jeu pour assurer le mouvement.

A. Organisation structurale

1. Structure du muscle

Le muscle squelettique est composé principalement d'un ensemble de cellules allongées, de forme cylindrique appelées fibres musculaires squelettiques, juxtaposées les unes à côté des autres et parcourant en parallèle toute la longueur du muscle, de l'une à l'autre de ses insertions tendineuses (Lieber and Friden, 2001). Les fibres musculaires sont enveloppées dans des gaines de tissus conjonctifs, organisées à différents étages du muscle. De l'extérieur vers l'intérieur, on distingue : l'**épimysium**, le **pérимysium** et l'**endomysium** (figure 1). Elles s'étendent à leurs extrémités et se réunissent pour former le tendon qui relie le muscle squelettique à la structure osseuse qu'il articule. Le muscle est aussi parcouru par un vaste réseau de vaisseaux sanguins qui apportent aux fibres musculaires les nutriments et l'oxygène dont elles ont besoin pour assurer la demande métabolique cellulaire tandis que les nerfs permettent l'innervation sensitive et motrice les fibres musculaires (Purslow, 2005).

2. Structure de la fibre musculaire

La fibre musculaire résulte de la fusion entre plusieurs cellules mononuclées immatures, appelées myoblastes, au cours du développement embryonnaire. Elle est formée de deux composantes : une contractile (les myofibrilles) qui initie le mouvement et une composante non contractile (mitochondries, reticulum endoplasmique, sarcolemme, enzymes et substrats métaboliques) qui soutient l'activité contractile. Chaque myofibrille est entourée par un réseau membranaire complexe dérivant du sarcolemme et qui s'invagine à l'intérieur, à intervalles réguliers, perpendiculairement à l'axe de la cellule. Ces prolongements membranaires forment le système tubulaire transverse appelé tubule-T qui a pour rôle de propager et d'assurer la diffusion rapide du signal électrique, depuis la périphérie de la fibre

jusqu'aux confins de celle-ci en créant une excitation rapide et simultanée de toutes les parties de la fibre en réponse au potentiel d'action (PA).

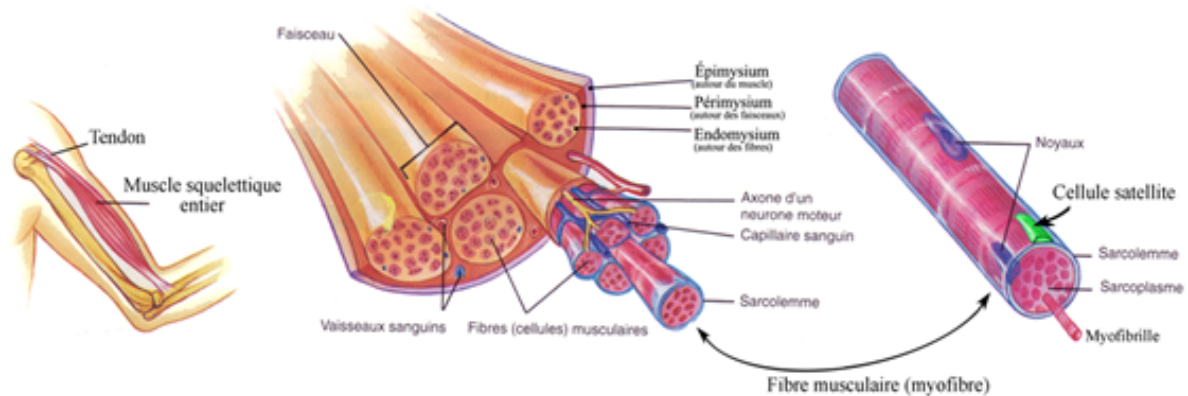


Figure 1: Coupe transversale du muscle squelettique permettant d'illustrer ses différentes structures. La fibre musculaire ; le sarcolemme ; le sarcoplasme ; les prolongements nerveux ; les vaisseaux sanguins ; la cellule satellite (responsable de la réparation et de la croissance du muscle) ainsi que les trois couches de tissu conjonctif : l'endomysium (enrobe chaque fibre et contient la lamina basale), le périmysium (délimite chacun des faisceaux de fibres) et l'épimysium (tissu matriciel qui entoure le muscle en entier). Adapté de (Tortora 1994).

3. Structure des myofibrilles

Les myofibrilles sont l'unité de base de la contraction (Huxley and Hanson, 1954) composées d'une succession de segments appelés sarcomères et délimitées à leurs deux extrémités par une strie Z (figure 2). Les sarcomères sont principalement constitués de deux types de myofilaments : les filaments fins d'actine et les filaments épais de myosine dont l'association bien définie, détermine les régions du sarcomère. En microscope électronique, la zone de chevauchement des myofilaments épais et fins laisse paraître de façon régulière, une bande sombre alternée par des bandes plus claires créant l'effet de **striation**. La partie la plus sombre du sarcomère, la bande A, se retrouve en son milieu et désigne les filaments épais de myosine. Elle comporte une bande plus claire, la bande H où seuls les filaments épais sont représentés tandis que la bande I contient uniquement le reste de la longueur des filaments fins (figure 2) c'est-à-dire les filaments d'actine (Nedergaard et al., 2013). La ligne M maintient les filaments de myosine au centre de la bande A grâce à l'aide d'un troisième filament constitué de **titine**, une protéine d'environ 4000 kDa qui fait le lien entre les stries Z et le filament épais de myosine (figure 2). Il existe plusieurs autres protéines dites régulatrices

et structurales qui jouent des rôles non moins négligeables dans l'activité musculaire. Cependant, la réalisation d'un mouvement dépend en grande partie des protéines dites contractiles que sont : la myosine et l'actine, dont l'action produit la force durant la contraction.

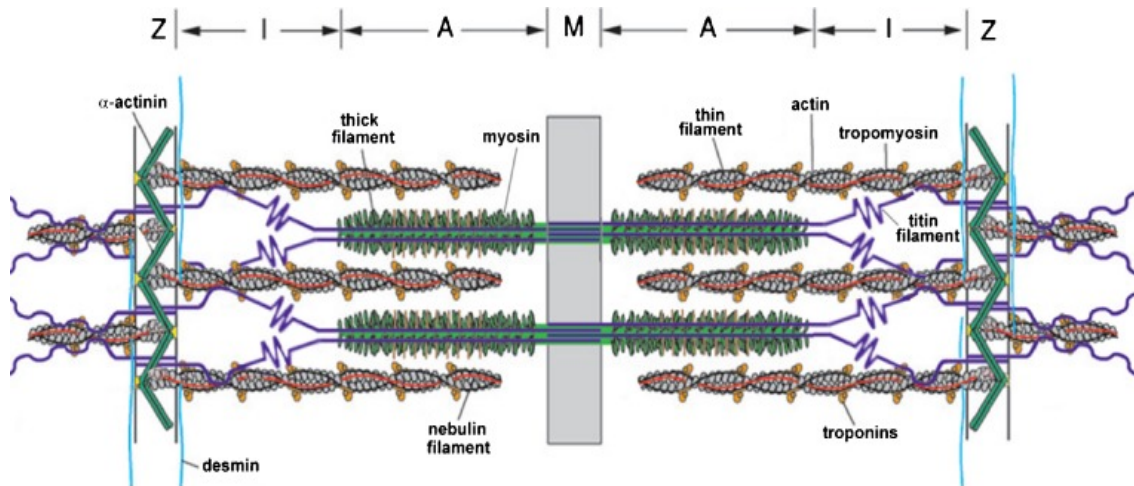


Figure 2: Vue d'ensemble de la structure du sarcomère et des protéines structurales les plus abondantes. Le sarcomère est délimité par deux stries Z. Au milieu du sarcomère, la présence de la bande A représentant les filaments épais de myosine. Aux extrémités du sarcomère, la présence des bandes I représentant exclusivement les filaments fins d'actine. Remarquons la présence au sein des stries Z, des protéines structurales : l'alpha-actine et la desmine. La titine, une autre protéine structurale maintient le filament épais de myosine au centre du sarcomère. Issue de (Nedergaard et al., 2013)

4. Unités motrices et types de fibres

a. Unité motrice

L'unité motrice représente l'unité de base fonctionnelle reliant le système nerveux au muscle. Les myocytes d'un muscle sont innervés par des axones moteurs provenant de la corne antérieure de la moelle épinière. Chaque nerf moteur ou motoneurone innerve à la fois plusieurs fibres musculaires, en revanche une fibre musculaire n'est innervée que par un seul motoneurone. C'est cet ensemble (motoneurone et fibres innervées) qui est appelé unité motrice d'après les travaux réalisés par Liddell et Sherrington en 1925 (Duchateau and Enoka, 2011). Le point de jonction entre les terminaisons axonales des motoneurones et les fibres musculaires est appelé jonction neuromusculaire ou plaque motrice (Coers, 1959; De Harven and Coers, 1959). D'après les études de Adrian et Bronk, la force maximale produite par le muscle lors d'une contraction dépend en partie, du nombre d'unités motrices activées

(nombre de fibres recrutées) et de la fréquence de décharge des influx nerveux (Adrian and Bronk, 1929). La contraction d'un muscle entier résulte alors de la sommation de l'ensemble des micro-contractions dues à l'activation des unités motrices du muscle (Raikova Rositsa et al. 2013). Ce processus est appelé : recrutement des unités motrices. Il se fait de façon asynchrone pour permettre aux fibres de se relayer au fur et à mesure qu'elles se fatiguent et afin de maintenir la contraction musculaire sur une longue période (Clamann, 1993). Les unités motrices diffèrent entre elles sur trois points essentiels : le type des myocytes innervés, le nombre de ces myocytes et enfin les caractéristiques propres du motoneurone qui innerve.

b. Les types de fibres musculaires

Le muscle squelettique est composé de plusieurs types de fibres à l'exception de quelques rares muscles. Les fibres musculaires diffèrent de par leur fonction, leur composition chimique, leur vitesse de contraction et leur fatigabilité (Sciote and Morris, 2000). En tenant compte de leurs caractéristiques métaboliques, physiologiques et chimiques (activité ATPasique), on peut en distinguer globalement trois principaux types de fibres. Les fibres lentes (type I) dites oxydatives, sont résistantes à la fatigue et produisent l'ATP essentiellement par la voie aérobie. Elles contiennent la forme lente de la myosine responsable de la vitesse de contraction du muscle. Les fibres rapides (type IIX) dites glycolytiques, sont puissantes, mais très fatigables. Elles contiennent la forme rapide de myosine. Enfin, les fibres intermédiaires (type IIA) possèdent à la fois les caractéristiques des deux types de fibres précédentes (Burke et al., 1973; Rivera-Brown and Frontera, 2012). Cependant, en raison de sa capacité à changer de phénotype et à s'adapter aux sollicitations mécaniques qui lui sont régulièrement imposées, le statut d'une fibre musculaire n'est pas définitif et peut varier. Ainsi, le muscle soumis à un entraînement peut subir des modifications significatives portant sur son métabolisme et sa structure (Ross and Leveritt, 2001; Sillen et al., 2013). Les modifications musculaires peuvent dépendre du type d'exercice, de son intensité et de sa durée. L'inactivité ou la dénervation peut aussi entraîner des changements dans le phénotype de la fibre musculaire (Degens et al., 2008; Patterson et al., 2006).

Plusieurs techniques permettent d'évaluer la distribution des fibres dans le muscle. L'une des techniques courantes dans la littérature, est celle qui utilise des anticorps dirigés contre les isoformes des chaînes lourdes de myosine (MHC) présentes dans la cellule. C'est la technique d'immunohistologie (Maier et al., 1988; Schiaffino et al., 1988).

B. Organisation fonctionnelle et biomécanique

1. Fonction contractile du muscle

a. Le couplage excitation - contraction

Le terme couplage excitation-contraction est utilisé pour désigner, les étapes conduisant de l'excitation du sarcolemme à la contraction des myofibrilles au sein de la fibre musculaire (Sandow, 1965). Le potentiel d'action et le calcium (Ca^{++}) sont deux messagers importants dans la réalisation de la contraction musculaire. Le potentiel d'action initie le couplage excitation – contraction et dès son arrivée au niveau de la jonction neuromusculaire, il se propage tout le long de la membrane plasmique et à l'intérieur de la cellule via les tubules T (Sandow et al., 1965). Quant au Ca^{++} , il est primordial dans la traduction du signal électrique en phénomène mécanique. En effet, l'arrivée du potentiel d'action produit une onde de dépolarisation le long de la membrane plasmique et de la surface des tubules transverses activant les récepteurs aux Dihydropyridines (DHP), eux-mêmes induisant l'ouverture des récepteurs à la ryanodine (RyR), entraînant la libération du Ca^{++} contenu dans les citernes du réticulum sarcoplasmique (RS). Le déclenchement de la contraction est ensuite initié par l'augmentation de la concentration du Ca^{++} dans l'espace cytosolique. La présence d'une quantité de calcium suffisante est indispensable pour libérer le site de liaison de la myosine à la molécule d'actine (Rios et al., 1991; Sandow, 1965). Le cycle de la contraction musculaire se répète tant qu'il y a présence d'ATP et d'un taux suffisant de Ca^{++} dans le sarcoplasme. Le muscle se relâche lorsque le PA prend fin. Le Ca^{++} restant dans le sarcoplasme est recapté dans le RS.

2. Expressions biomécaniques de la contraction musculaire

a. Réponses mécaniques du muscle

- *La secousse musculaire isolée ou twitch*: La secousse musculaire est définie comme étant la réponse mécanique du muscle suite à la dépolarisation de la membrane plasmique consécutive à une stimulation (Hodgson et al., 2005). Elle répond à la loi du « *tout ou rien* ». En conséquence, la fibre répond ou non à la stimulation. L'analyse de ce phénomène isolé permet de comprendre le développement d'une force par le muscle.

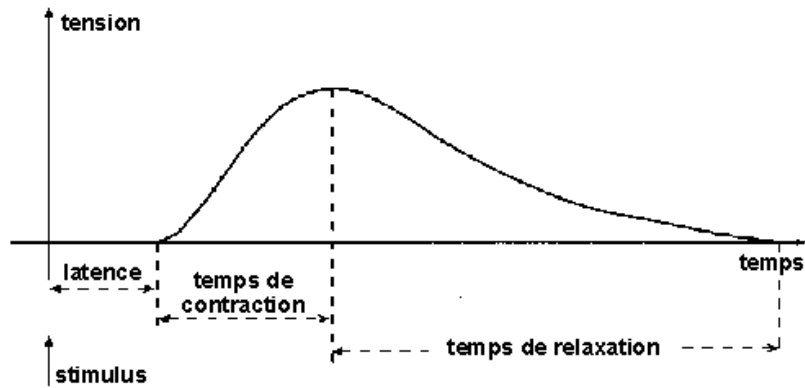


Figure 3 : Réponse mécanique d'une fibre musculaire isolée suite à une stimulation unique. D'après les travaux de Bouisset et Maton (1994)

- *La réponse graduelle du muscle ou sommation* : Contrairement à la fibre musculaire, le muscle ne suit pas la loi du « tout ou rien », c'est-à-dire qu'il n'existe pas de muscle qui se contracte entièrement après une stimulation. De façon générale, lors d'une stimulation du muscle, le recrutement d'unités motrices (UMs) se fait progressivement au fur et à mesure que l'intensité augmente jusqu'à ce qu'un maximum de fibres soit stimulé. La capacité du muscle est de fusionner les secousses ou « twitch » lorsque les stimulations sont suffisamment proches les unes des autres : on parle de *tétanos* (figure 4).

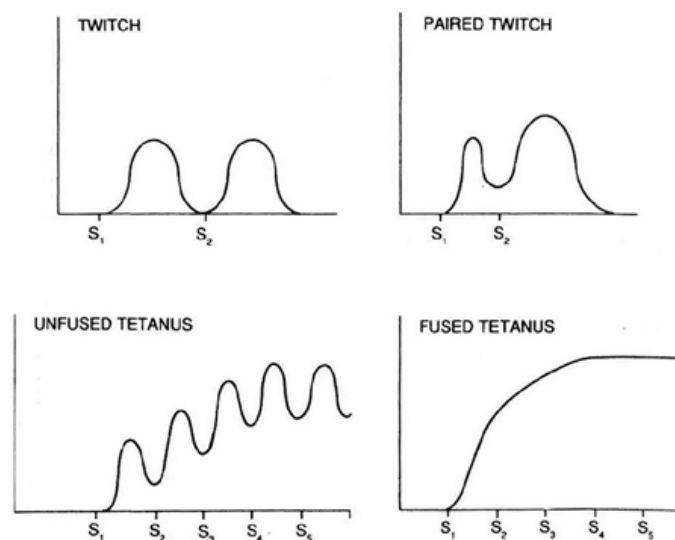


Figure 4: Illustration des différentes secousses musculaires. De la secousse isolée « twitch » (en haut à gauche), la double twitch (doublet, en haut à droite), le tétnanos imparfait (en bas à gauche) au tétnanos parfait (en bas à droite). Lorsque la fréquence de stimulation augmente, la génération de la force musculaire augmente jusqu'au tétnanos parfait. (D'après DeLee et al. 2003.)

Cette capacité du muscle à additionner les « twitch » est appelée sommation et elle est dépendante de l'intensité et de la fréquence des stimulations. Le téтанos est dit « *incomplet* ou *imparfait* », lorsque les valeurs enregistrées oscillent de façon plus ou moins régulière autour d'un plateau, alors qu'il est dit « *complet* ou *parfait* », lorsque le plateau atteint est constant (Clamann, 1993)

b. Les propriétés biomécaniques de la contraction

- Relation force – longueur : La force développée par un muscle dépend du nombre de ponts actine-myosine mis en jeu. Pour un même degré d'activation, la force de contraction d'un muscle dépendra en grande partie de sa longueur avant la contraction. L'analyse de la courbe montre que la force développée par le muscle croît avec sa longueur jusqu'à une longueur « optimale » (figure 5).

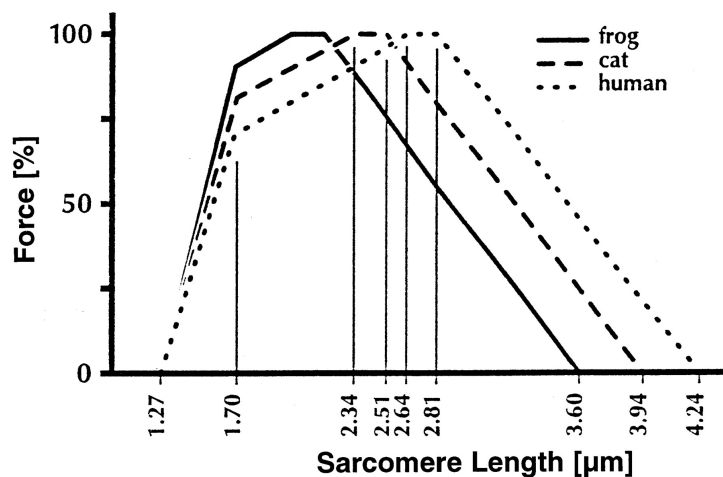


Figure 5 : Relation force - longueur du muscle squelettique. La force de contraction dépend de la longueur initiale du sarcomère. Représentation de la disposition des myofilaments d'actine et de myosine conditionnant la longueur du sarcomère (Rassier et al., 1999)

Depuis l'expérience de Gordon et al. en 1966, il est admis que cette longueur optimale, correspondant à la plus grande force développée F_0 du muscle au repos, se trouve au voisinage de la longueur de repos L_0 . Elle correspond à la longueur où se fait le plus grand nombre de ponts actine-myosine (Gordon et al., 1966a). Avant et au-delà de L_0 , la force produite est restreinte. Cette caractéristique du muscle est appelée « relation force – longueur » (Gordon et al., 1966b). La partie ascendante de la courbe correspond au sarcomère court, c'est-à-dire avec trop de chevauchement des filaments d'actine et de myosine ($< 2,2 \mu\text{m}$), limitant ainsi les possibilités de formations de ponts. En conséquence, la force

développée est moindre. Quant à la partie descendante, elle correspond à l'allongement du sarcomère ($> 2,2 \mu\text{m}$) au-delà du chevauchement optimal des filaments ne permettant qu'une possibilité limitée d'union entre eux. Pour une longueur de sarcomère de plus de $3,8 \mu\text{m}$, le chevauchement devient impossible, sa force active est alors nulle

- Relation force – vitesse : La production de force au niveau de chaque fibre musculaire activée, dépend de la vitesse à laquelle se fait la formation des ponts d'union actine-myosine. C'est la « *théorie du glissement* » des filaments dits contractiles (ou « *cross-bridge theory* ») proposée par Huxley en 1957. Un des éléments qui influencent la force développée par un muscle est la vitesse à laquelle ce dernier se contracte. C'est la théorie de la relation dite « *force – vitesse* ». (Ritchie and Wilkie, 1958). Les deux paramètres sont antagonistes de sorte que lorsque la force développée par le muscle augmente, il se raccourcit à faible vitesse et inversement, comme le montre la figure 6 (Piazzesi et al., 2002). On distingue sur cette courbe, deux points caractéristiques (figure 6).

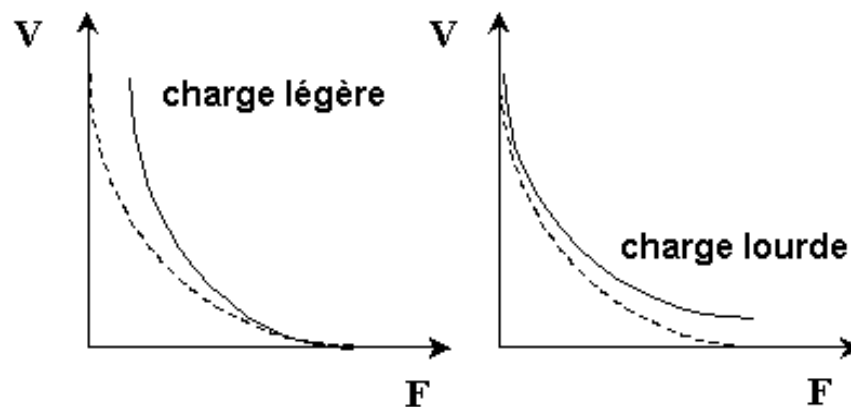


Figure 6: Relation force – vitesse obtenue sur un muscle sartorius isolé de grenouille.
Courbe tracée à partir de l'équation de Hill (D'après Ritchie et Wilkie, 1958)

La force maximale F_{max} (charge lourde) lorsque la vitesse de raccourcissement du muscle est nulle et la vitesse maximale V_{max} de raccourcissement sans charge (charge légère). Physiologiquement, ces deux valeurs de force et de vitesse sont influencées par les caractéristiques anatomo-physiologiques du muscle. La force maximale F_{max} semble être dépendante de la surface de section du muscle et la vitesse maximale V_{max} dépendante du type de fibre, c'est à dire du type d'isoforme de myosine (Edman et al., 1988).

c. Les différents types de contraction

La force de contraction du muscle est fonction des forces externes et des conditions mécaniques auxquelles il est soumis. Nommons L_0 la longueur initiale du muscle détaché de ses insertions au repos. Selon que le muscle est statique (sa longueur initiale L_0 ne change pas) ou dynamique (sa longueur initiale L_0 varie), on distingue deux types de contractions. Les contractions isométrique et anisométrique.

- Contraction isométrique : L'activation du muscle se faisant sans modification de la longueur L_0 du muscle et sans déplacement des articulations est appelée contraction isométrique. Dans ce cas, les filaments d'actine et de myosine forment des ponts et génèrent une force inférieure à la force externe exercée sur le muscle. Mais en raison de l'absence de déplacement articulaire, le travail produit est nul à cause d'un bras de levier inexistant (Rivera-Brown and Frontera, 2012).

- Contractions anisométriques: Elles sont divisées en deux sous-groupes. La contraction concentrique et la contraction excentrique. La contraction est dite concentrique, lorsque le muscle développe une tension interne supérieure à la force externe exercée sur le muscle. Les articulations bougent et la longueur du muscle se raccourcit à L_1 . Grâce au glissement entre eux, les filaments d'actine et de myosine se croisent et forment des ponts ($L_1 < L_0$). Ce type de contraction s'observe le plus souvent dans les activités qui font déplacer le corps comme la course ou le vélo. À l'inverse, la contraction est dite excentrique, lorsque le muscle développe une tension interne constante qui n'arrive plus à s'opposer à la force externe qui lui est imposée. Le muscle finit par s'allonger à L_2 . On dit que le muscle s'oppose à son propre étirement ($L_2 > L_0$). Dans la littérature, ce type de contraction est reconnue comme celle qui engendre le plus de dommages et de fatigue musculaires en raison du fait que la contrainte subie est plus importante et orientée dans la direction opposée à celle générée par la contraction concentrique (Feasson et al., 2010a; Hortobagyi et al., 1996).

II. DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET RÉGÉNÉRATION MUSCULAIRE

A. Myogenèse prénatale

1. Origine somitique des muscles

Chez les vertébrés, l'ensemble de la musculature de l'organisme provient de cellules souches contenues dans les somites, structures embryonnaires transitoires provenant du mésoderme présomitique (Christ and Ordahl, 1995) et qui se forment par paires suivant une progression antéro-postérieure, de part et d'autre du tube neuronal et de la notochorde (Tajbakhsh and Buckingham, 2000). Au cours de leur développement, deux structures naissent à partir d'une segmentation des somites : une structure mésenchymateuse ventrale appelée le sclérotome qui sera à l'origine du squelette axial (vertèbres et côtes) et une structure épithéliale dorsale appelée le dermomyotome (Kang and Krauss, 2010). Ce dernier abrite les cellules à destinées myogéniques qui seront à l'origine de la formation de l'ensemble de la musculature striée et du derme (Buckingham et al., 2003). Des cellules se détachent de l'extrémité médiale du dermomyotome et migrent en dessous de ce dernier, selon l'axe antéro-postérieur pour initier la formation du premier muscle squelettique : le myotome embryonnaire (Gros et al., 2004). À cette étape, les cellules du dermomyotome sont encore dotées d'un potentiel prolifératif tandis que le myotome primitif est essentiellement composé de myocytes qui sont des cellules post-mitotiques mononuclées exprimant déjà des gènes spécifiques du muscle codant pour des protéines comme la desmine (Buckingham and Relaix, 2007). La formation du myotome se fait sous le contrôle de 4 facteurs myogéniques à domaine β -HLH appelés facteurs de régulation myogéniques (MRFs) : MyoD, Myf5, myogénine et MRF4. Ils agissent à diverses étapes de la lignée myogénique pour établir le phénotype du muscle squelettique strié (Molkentin and Olson, 1996). Ils possèdent deux caractéristiques fondamentales : ils sont exclusivement présents dans les cellules musculaires et sont capables de déclencher un processus myogénique lorsqu'ils sont transférés dans un autre type de cellule (Weintraub et al., 1991)

2. Myogenèse et expression des facteurs myogéniques

a. Signaux contrôlant la différenciation des somites

A l'origine, les cellules somitiques présentent une multipotence initiale et sont capables de s'engager dans la lignée du sclérotome ventral ou celle du dermomyotome dorsal. Leur destinée est fonction des facteurs émis par les tissus des structures environnantes du somite, telles que le tube neural, la notochorde, l'ectoderme et l'endoderme (Bryson-Richardson and Currie, 2008). Ainsi, les signaux provenant des structures médiales (notochorde et tube neural) et de l'ectoderme : les facteurs Sonic Hedgehog (Shh), Wingless (Wnt), Bone Morphogenic Proteins (BMP) induisent respectivement une différenciation des somites en sclérotome (qui donnera naissance aux vertèbres et aux côtes) et en dermomyotome (qui donnera naissance aux muscles squelettiques striés) (Cossu et al., 1996). D'autres signaux notamment les protéines Pax ont été mis en évidence dans l'identification des progéniteurs des différents types cellulaires. Des expériences montrent que l'expression de Pax3 est requise pour une délamination et une migration correcte du pool de cellules précurseurs du dermomyotome. En l'absence de ce gène, les muscles issus de la migration des cellules ne sont pas bien formés au niveau des membres et d'autres parties du corps (Cossu et al., 1996). L'inactivation du c-met un autre gène dépendant du Pax3 (Epstein et al., 1996), semble aussi induire les mêmes conséquences musculaires que l'absence du Pax3 (Birchmeier and Brohmann, 2000). Le Pax3 est donc un gène dont l'expression est essentielle pour la définition et/ou la migration des cellules issues du dermomyotome, bien que ce gène soit identifié dans d'autres précurseurs non-myogéniques au sein du dermomyotome (Dietrich et al., 1999; Schmidt et al., 1995). Un autre facteur de transcription impliqué dans la migration des cellules a été identifié : le Lbx1 (Brohmann et al., 2000; Gross et al., 2000). L'inactivation de ce gène n'a pas d'incidence sur la délamination des cellules progénitrices du dermomyotome, mais ces cellules restent au voisinage des somites où elles peuvent par la suite prendre d'autres destinées cellulaires (Schafer and Braun, 1999).

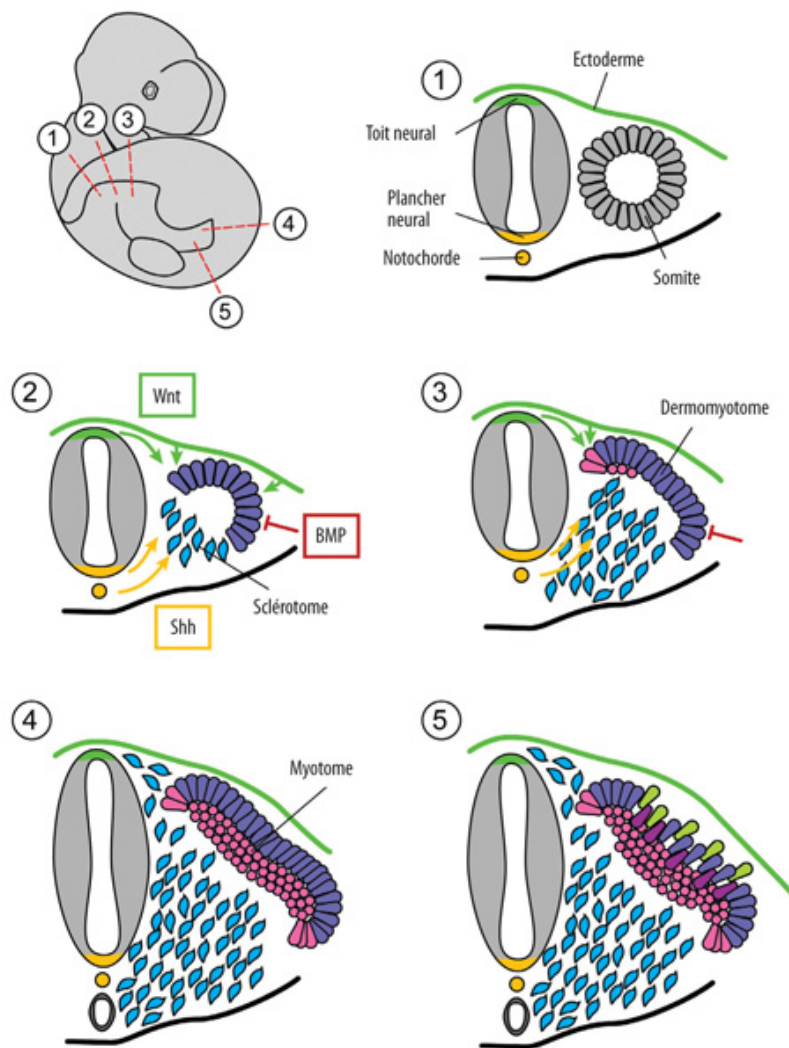


Figure 7 : Représentation schématique des étapes de la différenciation des somites. Le muscle strié squelettique provient du mésoderme paraxial qui se segmente en somites situés de part et d'autre du tube neural et de la notochorde (1). Chaque somite se divise en sclérotome (en bleu) dont la différenciation est induite par le facteur Shh (2) et en dermomyotome, en mauve (3). Les facteurs Shh et Wnt provenant de la partie dorsale du tube neural et de l'ectoderme dorsal (en vert) induisent la délamination des cellules de laèvre épaxiale pour former la première structure musculaire : le myotome, en rose (4), qui s'intercale entre le dermomyotome et le sclérotome. Puis (5) la partie centrale du dermomyotome perd sa structure épithéliale et contribue au derme dorsal (cellules vertes) et à la réserve de progéniteurs des cellules musculaires nécessaires à la continuité du développement musculaire, en violet. (D'après Pourquoi O; la lettre du Rhumatologue n°381, Avril 2012).

b. Détermination, prolifération et différenciation des myoblastes

La détermination musculaire est déclenchée, au moment où les précurseurs somitiques issus du dermomyotome, sous l'action d'une cascade de facteurs de transcription, s'engagent dans le lignage musculaire. Les cellules du dermomyotome expriment deux premiers facteurs : MyoD et Myf5, dont l'action conjuguée est déterminante pour l'entrée des cellules vers le lignage musculaire (Buckingham and Relaix, 2007; Cossu et al., 1996). Une absence de l'un

de ces deux facteurs engendre un retard ou un défaut dans le développement de la musculature (Rudnicki et al., 1993). Cependant, l'activation préalable du Pax3 semble être importante dans l'orientation vers le programme musculaire (Birchmeier and Brohmann, 2000).

Une fois engagées dans le programme myogénique, les cellules musculaires issues des somites sont appelées myoblastes. Dotées d'un pouvoir mitotique qui leur permet de se multiplier en nombre important, les myoblastes vont proliférer pour assurer le développement du muscle squelettique. Une expression des facteurs de transcription MyoD et Myf5 dans les cellules en phase de prolifération a été proposée, suggérant que ces deux facteurs jouent un rôle régulateur dans le cycle cellulaire.

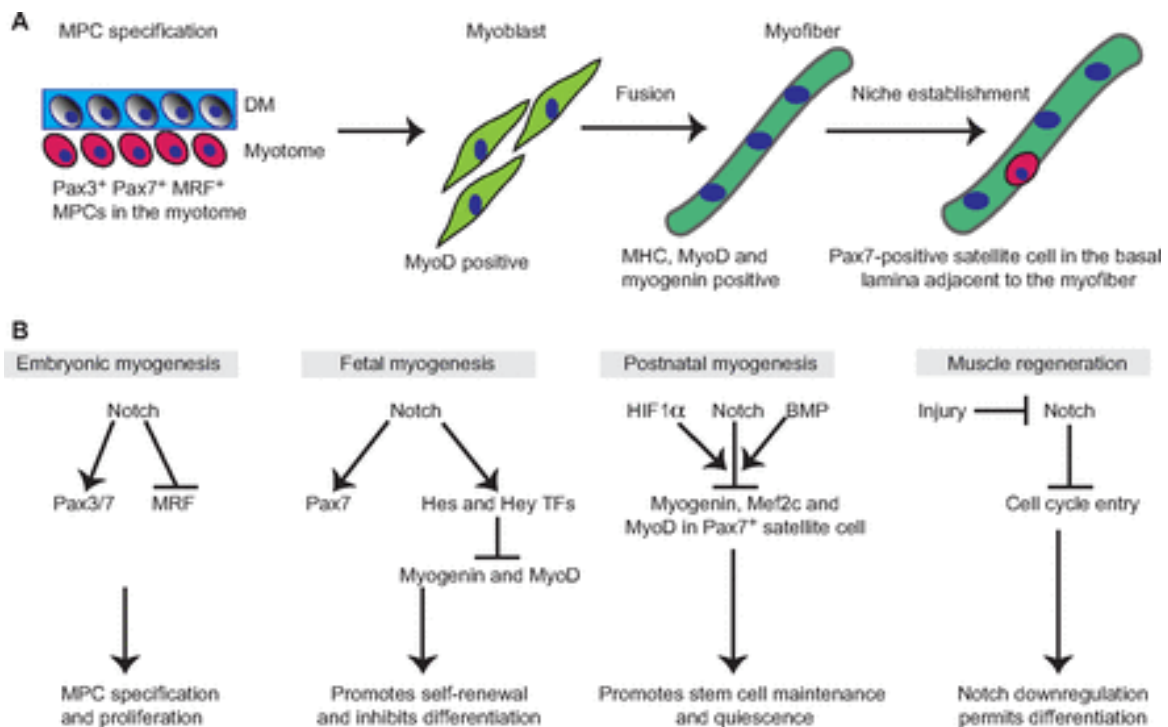


Figure 8 : Les étapes du développement des myoblastes depuis les somites et les différents facteurs myogéniques. (A) Au cours de la myogenèse, progénitrices myogéniques marquées Pax3⁺/Pax7⁺ donnent naissance à des myoblastes indifférenciés MyoD⁺. En outre, la fusion des myoblastes génère des fibres musculaires multinucléées exprimant des marqueurs de différenciation tels que les chaînes lourdes de myosine (MHC), MyoD et myogénine. La lame basale adjacente aux fibres musculaires différenciées agit comme une niche pour les cellules satellites au cours de la myogenèse postnatale. (B) Dans le dermomyotome (DM), la signalisation Notch contribue au développement musculaire par la régulation des cellules souches musculaires/progénitrices pendant la myogenèse embryonnaire, foetale et postnatale. Au cours de la régénération musculaire, la signalisation Notch est régulée à la baisse, accompagnée d'une régulation à la hausse de la signalisation Wnt. Ceci permet aux cellules satellites de quitter l'étape quiescente pour entrer dans le cycle cellulaire. L'activation de gènes myogéniques tels que MyoD, myogénine et MHC entraîne leur différenciation terminale vers les fibres musculaires multinucléées (D'après Koch U et al., 2013).

Après la détermination et la prolifération, les myoblastes doivent sortir du cycle cellulaire. Outre les signaux d'inhibition de la prolifération (les gènes P21, P57 et la myostatine), la levée d'inhibition de la différenciation (signalisation de la voie Notch) et l'activation de la différenciation, d'autres facteurs de transcription tardifs sont exprimés. Les facteurs les plus importants à cette étape sont : Myogénine et Mrf4. Ils induisent l'expression des protéines structurales et fonctionnelles de la cellule telles que la créatine kinase (CK), la desmine et la myosine (Jouliia-Ekaza and Cabello, 2006; Kitzmann and Fernandez, 2001). Grâce à la mise en place de toutes ces voies de signalisation, les myoblastes acquièrent de nouveaux mécanismes tels que l'attraction et l'adhésion. Ils acquièrent la capacité de fusionner leurs membranes pendant une période d'interaction cellule-cellule appelée « *prefusion-lag periode* », qui est caractérisée par une apposition étroite et un alignement des cellules en clusters. La formation des myotubes commence d'abord par l'alignement, l'allongement et la fusion myoblaste - myoblaste, suivie d'une fusion myoblaste - myotube et enfin une fusion myotube - myotube. Les myotubes sont des cellules multinucléées dont les noyaux sont alignés au centre de la cellule. Par la suite, les myotubes vont croître et subir une maturation pour donner des fibres musculaires fonctionnelles avec des noyaux repoussés à la périphérie (Krauss et al., 2005).

3. Les phases de la myogenèse pré-natale

Les études *in vivo* réalisées sur modèles animaux montrent que la différenciation et la maturation des myotubes pendant la myogenèse, ne se font pas en même temps et de la même façon dans tous les myotubes. La formation des fibres est décrite comme étant bi-phasique c'est-à-dire que la génération de fibres se fait suivant deux périodes de formation distinctes selon la morphologie et les gènes qu'elles expriment.

a. Myogenèse primaire

Le terme « *myogenèse primaire* » a été utilisé pour signifier que cette catégorie de fibres représente la première vague de fibres formées à partir des premiers myoblastes. Ces myoblastes sont issus uniquement de la myogenèse embryonnaire et sont distribués pour former les muscles des membres (Ontell et al., 1988). Les myotubes issus de la fusion de ces myoblastes sont aussi appelés myotubes de première génération ou myotubes primaires (Kelly and Zacks, 1969). Les fibres primaires augmentent rapidement en diamètre, mais représentent une minorité par rapport à l'ensemble des fibres qui forment le muscle (Wigmore and

Dunlison, 1998). Mais, elles fournissent les bases, établissent les territoires anatomiques de la musculature et jouent un rôle très important dans la génération des futures nouvelles fibres (figure 9). Les myotubes primaires sont principalement à l'origine de la formation des fibres lentes, mais une faible proportion de ces fibres peut se convertir en fibres rapides (Stockdale and Miller, 1987). Cette conversion n'a lieu que dans les régions musculaires majoritairement composées de fibres rapides (Condon et al., 1990). Les fibres primaires serviront de support pour l'établissement des myotubes secondaires.

b. Myogenèse secondaire

Plus tardivement, d'autres signaux déclenchent une vague de prolifération donnant naissance à une seconde génération de myoblastes : les myoblastes foetaux appelés myoblastes secondaires (Ross et al., 1987). Cette phase implique la fusion des myoblastes foetaux entre eux, ce qui donne naissance aux fibres dites secondaires. Les fibres issues de cette génération sont petites et sont positionnées à la périphérie de chaque fibre primaire. La myogenèse secondaire va être caractérisée par l'innervation du muscle, une croissance et une maturation plus importantes de la masse musculaire (Duxson et al., 1989). Les fibres secondaires, plus petites que les fibres primaires se forment autour de ces dernières (figure 9), exactement à l'endroit où elles commencent à fusionner entre elles et à s'innover via les connexions. Les myotubes ainsi formés vont subir une croissance et une maturation caractérisées par une migration des noyaux vers la périphérie alors qu'ils étaient jusque-là alignés au centre de la fibre. Ces myotubes se différencient et forment leur propre lame basale. Les myotubes secondaires sont principalement à l'origine de la formation des fibres rapides dont quelques-unes peuvent se convertir en fibres lentes (Wigmore and Dunlison, 1998). La fin de la myogenèse va être caractérisée par un arrêt de la formation des fibres et une diminution du diamètre des fibres primaires (Wigmore and Stickland, 1983)

La différence fondamentale entre les fibres des deux générations réside dans l'expression des chaînes lourdes de myosine. Les fibres primaires sont généralement lentes alors que les secondaires peuvent être à la fois lentes et rapides (Wigmore and Evans, 2002). Au cours de ces étapes ultérieures, les fibres musculaires conservent individuellement l'engagement et les caractéristiques intrinsèques des myoblastes desquelles elles sont issues (Nikovits et al., 2001) ou peuvent être modélées de façon extrinsèque par l'innervation, les hormones ou les facteurs de croissance. C'est dans ce cas que les fibres primaires initialement lentes peuvent se convertir en fibres rapides (Blagden and Hughes, 1999).

B. Régénération du muscle squelettique strié

À la fin de la myogenèse prénatale marquée par la disparition du compartiment somitique, le muscle continue de croître jusqu'à l'âge adulte. Durant la période post-natale pour adapter son fonctionnement, il doit régulièrement faire face aux nécessités de remodelage musculaire dû aux traumatismes tels que les blessures, les nécroses, les dommages musculaires liés aux activités quotidiennes ou à l'exercice physique. Dans les conditions normales, la croissance physiologique et la réparation myogénique post-traumatique musculaires sont souvent correctement assurées, grâce à l'importante capacité adaptative d'une sous-population de progéniteurs musculaires particuliers, demeurant dans le muscle adulte : les « *cellules satellites* ».

1. Cellules satellites : Principale source de régénération

Le muscle adulte est un tissu composé principalement de fibres multinuclées différenciées et de noyaux post-mitotiques. Dans les conditions normales, en absence de toute maladie ou blessure, le turnover nucléaire est très faible (Spalding et al., 2005). Lorsque l'intégrité du muscle est menacée, le turnover nucléaire et la réparation musculaire sont assurés dans des conditions appropriées, grâce aux SCs. Elles sont caractérisées par une grande capacité d'auto-renouvellement qui leur permet d'apporter de nouveaux noyaux aux muscles (Moss and Leblond, 1971). Plusieurs études soulignent leur hétérogénéité. Récemment, d'autres potentielles cellules progénitrices du muscle adulte telles que les cellules de la side population (Schienda et al., 2006), des mesangioblastes, cellules souches associées aux vaisseaux sanguins (Cossu and Biressi, 2005) et une nouvelle population de cellules souches : les Muscle Derived Stem Cells appelée MDSC (Gussoni et al., 1999) ont été identifiées. Cependant, la contribution de ces populations à la croissance et à la régénération du muscle semble être minime. Les SCs sont clairement reconnues comme jouant le rôle principal lors de la croissance et du processus de régénération post-natale (Buckingham, 2006; Cossu and Biressi, 2005; Relaix and Marcelle, 2009).

Comme les progéniteurs embryonnaires du muscle, les SCs identifiées dans les muscles du tronc et des membres proviennent des dermomyotomes central et latéral. Elles expriment de façon spécifique les facteurs de transcription Pax3/Pax7 déjà présents dans les cellules somitiques (Collins, 2006; Cossu and Biressi, 2005). Des études ont permis de comprendre le

mécanisme par lequel, les SCs incorporent la cellule musculaire au cours de la myogenèse pré-natale.

Au cours de la myogenèse secondaire caractérisée par la formation de fibres dites secondaires, le processus de synthèse de la lame basale de chaque fibre est déclenché. C'est à ce moment que certains myoblastes échappent à la fusion, se replient à la périphérie, se logent en dessous des membranes des fibres et forment la population de SCs (Cossu and Biressi, 2005). Durant les périodes péri- et post-natale, les SCs se divisent rarement et lorsqu'elles se divisent c'est pour contribuer à une addition de noyaux pour augmenter la taille des fibres musculaires dont les noyaux sont post-mitotiques.

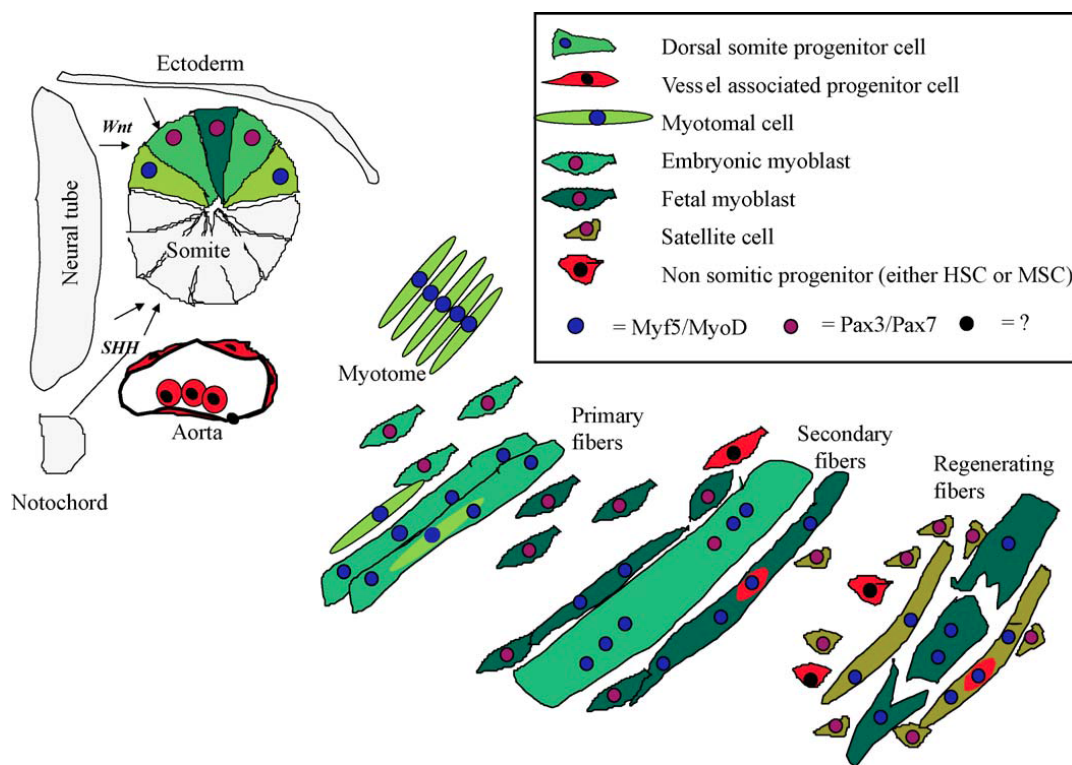


Figure 9 : Représentation schématique des différentes étapes de la myogenèse au cours du développement du muscle squelettique. Les cellules myogéniques ont une origine somitique. Après la formation du myotome, elles participent premièrement à la myogenèse primaire avec la formation des fibres primaires issues de la fusion des myoblastes embryonnaires, puis à la myogenèse secondaire avec la formation des fibres secondaires issues des myoblastes fœtaux. C'est au cours de la myogenèse secondaire que se forment les vaisseaux sanguins. Enfin, la régénération des fibres se fait essentiellement grâce à l'action des cellules satellites (Cossu and Biressi, 2005).

2. Étude des cellules satellites

a. Localisation, structure et distribution

Caractérisées par leur localisation, les SCs sont situées en périphérie des myotubes multinucléés et des fibres matures, entre lame basale et sarcolemme d'où leur nom **cellules satellites** (Mauro, 1961). Elles ont la particularité d'être présentes uniquement dans les cellules musculaires striées et non dans les cellules cardiaques ou lisses. Orientées de façon parallèle à l'axe longitudinal de la fibre, les SCs mesurent entre 15 et 50 μm (Schultz and McCormick, 1994). Fusiformes et dotées d'un puissant pouvoir mitotique, elles montrent des caractéristiques morphologiques et moléculaires qui leur sont propres. Leur cytoplasme peu abondant et leur hétérochromatine nettement visible permettent de distinguer leurs noyaux, des myonucléi euchromatiques.

Généralement dans un état quiescent dans le muscle mature sédentaire sain, le nombre total de SC représente environ 2 à 7 % du nombre total de myonucléi, tandis que 4 à 10 % de ce taux peut être activé dans des conditions physiologiques (Charifi et al., 2003b; Maier and Bornemann, 1999; Watkins and Cullen, 1988). Chez l'homme, pendant une grande partie de la vie, de l'enfance à l'âge adulte, le nombre de SCs reste relativement constant malgré de possibles et nombreux cycles nécrose/régénération et leur distribution par type de fibre est homogène chez les sujets jeunes et les adultes (Verdijk et al., 2014). Cependant, le pool de SCs varie en fonction de l'âge. La littérature rapporte une diminution du pool de SCs (Kadi et al., 2004b; Verdijk et al., 2007) et une distribution fibre-dépendante des SC chez les personnes âgées comparées aux jeunes adultes. Le pool de SCs semble être plus élevé dans les fibres lentes que dans les fibres rapides chez la personne âgée (Kadi et al., 2004a; Verdijk et al., 2007; Verney et al., 2008a).

Bien qu'intimement associée aux fibres musculaires, la localisation de la SC ne suffit pas à elle seule, pour l'identifier, puisqu'il a été démontré que d'autres types cellulaires, tels que les cellules souches des vaisseaux, peuvent aussi occuper cette niche (Dhawan and Rando, 2005). La question de l'identification de la SC a été longtemps débattue et il en ressort que cette identification doit nécessairement être caractérisée à la fois non seulement par sa localisation (entre lame basale et sarcolemme), mais aussi par des marqueurs spécifiques de lignage myogénique.

b. Les marqueurs moléculaires

Avec le développement des techniques de microscopie, d'immunohistochimie et le développement d'anticorps, divers marqueurs moléculaires ont été mis en place pour l'identification des SCs qui présentent des profils différents en fonction de leur état fonctionnel (Lindstrom and Thornell, 2009). Plusieurs marqueurs de SC ont été identifiés parmi lesquels des marqueurs membranaires (NCAM ou CD56, VCAM, MCad), des marqueurs cytoplasmiques (desmine) et des facteurs de transcription (Pax7, Myf5, MyoD). Ce profil d'expression varie en fonction de l'état de la SC. De tous ces marqueurs, le Pax7 et le CD56 sont les plus utilisés et les plus fiables (Dreyer et al., 2006a; Illa et al., 1992; Kadi et al., 2005; Mackey et al., 2007a; Mackey et al., 2009; Oustanina et al., 2004), même s'il a été démontré que dans certains muscles, le CD56 peut également marquer une sous-population lymphocytaire qui pourrait participer à la régénération et rendre la reconnaissance des cellules SCs un peu confuse (Thornell et al., 2003). De récentes études ont montré que Pax7 joue un rôle crucial dans le maintien de la population de SCs post-natales (Relaix et al., 2006; Relaix et al., 2005; Zammit et al., 2006). Ce gène est exprimé à la fois à l'état quiescent comme à l'état prolifératif dans la cellule satellite (Zammit et al., 2004), permettant de mieux les identifier (activées comme quiescentes). Le Pax7 représente ainsi, le marqueur le plus fiable pour identifier les SCs. Quelque soit leur état, d'autres marqueurs sont utilisés exclusivement pour évaluer l'activation des SCs. De tous ces marqueurs, le plus fiable et le plus utilisé est le Ki67 qui est un marqueur de prolifération cellulaire (Mackey et al., 2009).

3. Rôles et mécanismes d'auto-renouvellement des cellules satellites

a. Rôle et fonctions

Les SCs jouent un rôle fondamental dans les processus de croissance post-natale, dans l'hypertrophie et dans la régénération musculaire. À l'état quiescent sous la lame basale, elles peuvent recevoir des signaux d'activation en réponse à de nombreux stimuli (étirements, blessures, exercices) qui les conduisent à reprendre le cycle cellulaire (Moss and Leblond, 1971). Puis, elles prolifèrent par mitoses successives (figure 10) pour produire des myonucléi supplémentaires en incorporant des myocytes avoisinants ou contribuer à la formation de myoblastes (Zammit et Beauchamp, 2001). Enfin, les myoblastes se différencient et fusionnent ensemble pour la réparation des segments de fibres endommagées ou pour assurer la croissance des fibres existantes ou la formation de nouvelles fibres (Grounds, 1999; Mackey et al., 2009; Tajbakhsh, 2009). Malgré les différents épisodes de divisions cellulaires

et de différenciation initiés à travers la régénération physiologique et les blessures du muscle (Schultz and McCormick, 1994), le pool de SCs dans le muscle adulte reste relativement constant. Le renouvellement constant du pool repose sur la capacité d'auto-renouvellement de ces SCs (Dhawan and Rando, 2005) qui joue un rôle primordial dans le maintien de l'homéostasie cellulaire.

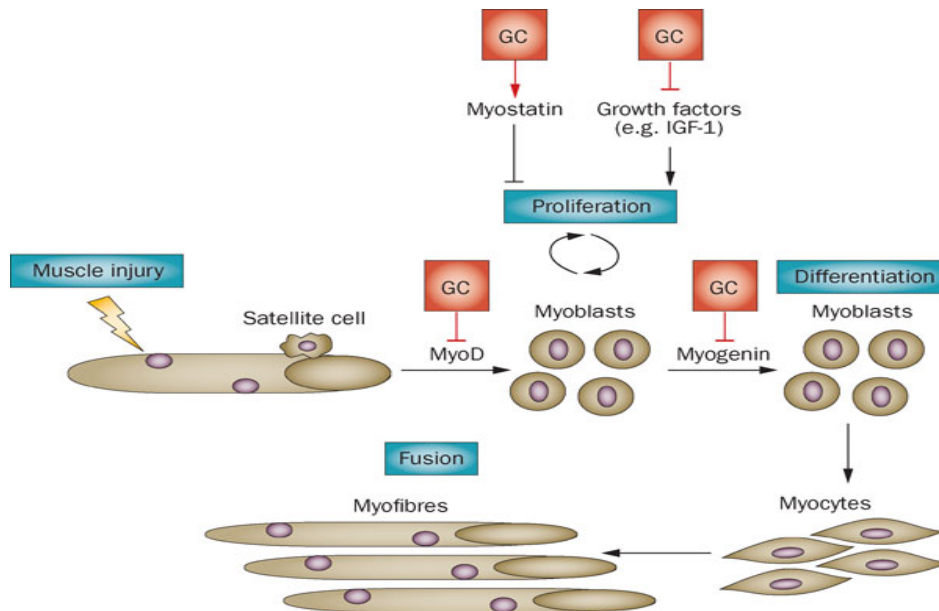


Figure 10 : Après une lésion musculaire, les cellules satellites situées sous la lame basale des fibres musculaires sont activées, prolifèrent et se différencient. Les cellules satellites, identifiables par l'expression du facteur de transcription Pax7, fusionnent ensuite avec les myofibres existantes pour les réparer ou fusionnent entre elles pour former de nouvelles myofibres. La régénération du muscle est régulée par la famille de facteurs de transcription myogéniques : MyoD, Myf5, myogénine et MRF4 (Hanaoka et al., 2012)

b. Mécanismes d'auto-renouvellement

L'équilibre de la balance différenciation/auto-renouvellement est donc vital à la fois pour le maintien du pool de cellules satellites et l'homéostasie cellulaire. Un dysfonctionnement pourrait conduire soit à une diminution du pool de SCs alors qu'un auto-renouvellement incontrôlé pourrait créer un risque tumorigène. Le mécanisme précis par lequel la cellule satellite s'auto-renouvelle reste encore peu connu. Cependant, deux modèles alternatifs basés sur la division cellulaire ont été proposés, pour justifier des moyens mis en place par la cellule (Buckingham, 2006; Collins, 2006; Dhawan and Rando, 2005; Relaix and Marcelle, 2009). Dans le premier modèle dit « *asymétrique* », la SC activée subit une première division asymétrique donnant naissance à deux cellules filles dont l'une retourne à l'état quiescent pour former une nouvelle SC et l'autre s'engage dans des divisions symétriques successives

pour produire de nombreuses autres SCs qui se différencient jusqu'à donner des fibres musculaires (figure 11a). Quelques - unes de ces SCs ayant subi la prolifération peuvent aussi redevenir quiescentes et se loger sous la lame basale.

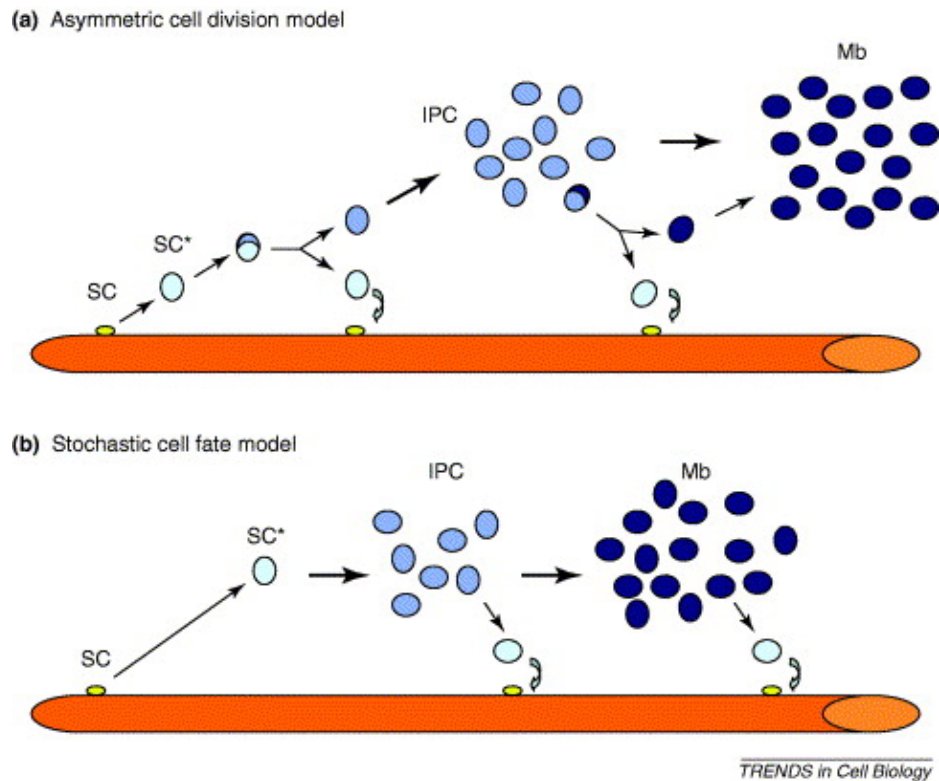


Figure 11 : Reconstitution des cellules satellites. Deux modèles sont présentés après l'activation des SC. Ce sont deux modèles d'auto-renouvellement qui pourraient inclure la contribution d'autres cellules dans le muscle lors de la reconstitution du pool de cellules satellites après une blessure. **(Image a)** Dans le premier modèle de « *division cellulaire asymétrique* », une SC au repos (SC) devient active (SC*) en réponse à un stimulus externe tel que la lésion musculaire. Une division cellulaire asymétrique pourrait alors se produire au cours de la première division cellulaire, avec une SC fille qui revient au repos et l'autre SC fille prolifère pour élargir le pool de cellules progénitrices intermédiaires (IPC). Une division cellulaire asymétrique pourrait également se produire à ce stade, avec une nouvelle SC fille qui retrouve un état quiescent tandis que l'autre SC fille prolifère pour élargir le nombre de myoblastes capables de fusionner (Mb), qui serait également dérivé du contenu d'IPC déjà générées. **(Image b)** Dans le second modèle dit « *stochastique* », la SC activée commence à se multiplier et la descendance issue de ses divisions devient IPC et ensuite myoblastes. Aux stades de l'IPC ou de myoblaste, une de ces progénitures adopte un sort différent et revient à l'état quiescent sous la lame basale pour devenir une nouvelle cellule satellite. (D'après (Dhawan and Rando, 2005))

Dans le second modèle dit « *stochastique* », la descendance de chaque SC activée, est issue d'une succession de divisions symétriques (90 % de toutes les divisions) dont le but est d'assurer l'auto-renouvellement du pool de SC. Après la phase de prolifération, une ou plusieurs cellules retournent sous la lame basale à l'état quiescent tandis que le reste des cellules subit une différenciation pour produire des fibres musculaires (figure 11b).

4. Cellules satellites et maladies neuromusculaires

Dans le cadre des maladies neuromusculaires (MNM), les études quantitatives réalisées rapportent un contenu musculaire en SC élevé comparé à celui des muscles de sujets sains (Ishimoto et al., 1983; Maier and Bornemann, 1999; Wakayama, 1976). Ce pool de SC semble encore plus important dans les muscles dystrophiques comparé à ceux porteurs d'autres maladies musculaires (Kottlors and Kirschner, 2010; Wakayama, 1976). La remarquable augmentation du pool de SC témoigne d'un important turnover protéique, issu du permanent processus de dégénérescence/régénérescence caractéristique des maladies neuromusculaires. S'il est connu que l'atrophie musculaire liée à l'âge ou à l'inactivité prolongée est associée à une diminution du pool de SC, celle liée aux MNMs ne semble pas respecter systématiquement cette logique biologique. Cependant, cette augmentation du pool dans les muscles de patients porteurs de MNM, laisse penser que le pool de SCs pourrait considérablement diminuer au fil des années dans ces muscles. A la date d'aujourd'hui, peu d'études sont rapportées dans la littérature précisant les mécanismes existant et liant le pool de SC et l'atrophie musculaire dans le cadre des MNMs. Une meilleure connaissance de ces mécanismes cellulaires et moléculaires liés à la régénération musculaire pourrait revê tir une importante valeur clinique.

III. ADAPTATION DE LA FONCTION MUSCULAIRE À L'EXERCICE

Le muscle a la capacité de se modifier, de changer sa structure et ses propriétés fonctionnelles sous l'influence de stimuli comme par exemple l'exercice physique. Les réponses du muscle restent très variables en fonction du type d'exercice, de son intensité, de sa fréquence et de sa durée, (Bogdanis, 2012; Dreyer et al., 2006b; Moss and Leblond, 1971). C'est la raison pour laquelle, il est important de bien définir les types d'exercices et leurs caractéristiques, auxquels le muscle peut être contraint.

A. Différents types d'exercices

1. Exercice en résistance

En réponse à la demande énergétique croissante de son activité, le muscle utilise plusieurs voies métaboliques de production d'énergie sous forme ATP. Les réserves d'énergies stockées dans le muscle sous forme d'ATP et de créatine phosphate (CP) sont celles qui sont utilisées préférentiellement dès les premières secondes d'un exercice physique. Ces réserves sont disponibles dès le début de l'exercice et utile pour une mise en action musculaire, d'intensité très élevée (80 % - 100 % de la capacité maximale). Cette filière métabolique est appelée « voie anaérobie alactique », *c'est-à-dire* une filière qui fournit de l'énergie au muscle, en l'absence d'oxygène et sans production d'acide lactique. L'énergie totale disponible est utile juste pour des exercices de durée très brève comme par exemple un sprint de 10 secondes ou un saut en hauteur. Généralement, les paramètres de mesures fonctionnelles qui permettent d'évaluer cette filière sont la contraction maximale volontaire (CMV), une répétition maximale (1-RM) ou une détente verticale (Bogdanis et al., 1996; Feasson et al., 2010b; Rivera-Brown and Frontera, 2012).

Pour que l'activité intense se prolonge au-delà de 10-15 secondes, le muscle a besoin de plus d'énergie. Les réserves de CP et ATP intramusculaires étant très limitées, l'organisme fait rapidement appel à une autre source d'énergie. La dégradation rapide du glycogène et du glucose en ATP va permettre de poursuivre l'activité sur quelques minutes. Cette filière est appelée « voie anaérobie lactique ». Elle intervient en priorité lorsque, le besoin d'énergie est encore intense pour poursuivre l'exercice comme dans les courses rapides de 400 – 800 m.

Elle intervient aussi au début d'un exercice de faible intensité, lorsque le système de transport d'oxygène n'est pas encore complètement activé. Cette voie métabolique est caractérisée par une production d'énergie sans présence d'oxygène (O_2), mais avec l'accumulation du lactate (Rivera-Brown and Frontera, 2012). La théorie classique stipule que l'acide lactique est le facteur limitant de l'activité, car l'acidité du milieu intracellulaire va induire des dysfonctionnements enzymatiques ce qui entraîne une fatigue musculaire voire l'arrêt de l'activité. L'évaluation de cette filière peut être appréciée par la lactatémie maximale ou le déficit maximal d'oxygène accumulé (Parolin et al., 1999). Cette théorie a toutefois été remise en cause récemment car l'augmentation du lactate n'est probablement pas un facteur majeur de la fatigue musculaire (Allen et al., 2008).

2. Exercice aérobie

Lors d'une activité de faible ou moyenne intensité, la production d'énergie par le muscle se fait en utilisant la voie dite de « phosphorylation oxydative ». Cette voie est activée lorsque l'apport d'oxygène via les voies aériennes est régulier et suffisant. Cette filière détient le rendement énergétique le plus élevé et représente la source d'énergie principale lors d'un exercice prolongé. La quantité d'énergie totale fournie par la voie aérobie est plus importante que celle fournie par les deux autres voies indiquées ci-dessus, mais sa puissance maximale est inférieure. Elle se fait à l'intérieur d'organites cellulaires spécialisés dans la production d'ATP appelés mitochondries. Le métabolisme aérobie repose sur l'oxydation des hydrates de carbone via le cycle de Krebs et la bêta – oxydation des lipides. Les paramètres de mesures de cette filière énergétique sont : la consommation maximale d'oxygène (VO_2max), la puissance maximale d'oxygène (PMA) ou la cinétique de consommation d' O_2 (Feasson et al., 2010b; Rivera-Brown and Frontera, 2012).

En raison de ces différences métaboliques, il est crucial dans la mise en place d'un programme d'entraînement, de définir clairement le type d'exercice, son intensité et sa durée ainsi que les modes de contractions musculaires impliqués dans l'exercice en fonction des objectifs à atteindre. Il est aussi important de connaître les conséquences physiologiques et musculaires à court et à long terme du type d'exercice retenu.

B. Contraintes mécaniques liées à l'exercice

1. Les courbatures : Un modèle de contraintes imposées au muscle

La pratique d'un exercice physique inhabituel entraîne souvent l'apparition de douleurs musculaires ou myalgies consécutives à un effort physique (24 à 48 heures post-efforts) avec des répercussions fonctionnelles variables communément appelées **courbatures**. Dans la littérature scientifique, le terme anglo-saxon *delayed onset muscle soreness* (DOMS) ou *exercise-induced muscle soreness* qui signifie « douleurs musculaires à effet retardé » est le plus approprié pour définir la courbature. Il s'agit en général de symptômes sans gravité, disparaissant spontanément en quelques jours sans nécessité de consultation en dehors d'une thérapie antalgique ou anti-inflammatoire occasionnelle.

Les impacts tissulaires et cellulaires liés à ce phénomène ont fait l'objet de nombreuses publications, (Assumpcao Cde et al., 2013; Cheung et al., 2003; Nosaka and Clarkson, 1997; Nosaka and Kuramata, 1991; Olsen et al., 2012; Proske and Morgan, 2001b). En microscopie, les études révèlent des modifications tissulaires essentiellement ultra-structurales qui témoignent des perturbations fréquemment observées et focalisées autour des striations des sarcomères qui sont l'objet de cisaillements. Au niveau des sarcomères les plus endommagés, il est observé une condensation extensive de l'ensemble du matériel myofibrillaire de la bande I correspondant à l'hyper contraction repérée à plus grande échelle lors d'études en microscopie photonique chez l'animal (Fridén, 1984). À cela s'ajoute une rupture de la régularité de disposition des myofibrilles adjacentes, mise en évidence par la perte de l'alignement des stries Z entre sarcomères voisins. Ce qui traduit les ruptures des filaments intermédiaires comme la desmine, en charge des jonctions inter myofibrillaires (Lieber and Fridén, 1996). En observation photonique, chez l'Humain sain, il est tout au plus évoqué une discrète irrégularité du calibre des fibres, la présence d'un œdème interstitiel et de rares noyaux internalisés dans certains myocytes (Davies and White, 1981; Newham et al., 1983).

La contrainte mécanique excessive est initiatrice de cette douleur, puis différents phénomènes chimiques secondairement engagés participent à son amplification. Cette succession des phénomènes mécaniques puis chimiques correspond à l'aspect différé des douleurs observées lors des courbatures d'où le nom de DOMS. En phase aiguë, l'apparition de lésions mécaniques sur le sarcolemme et les myofibrilles s'accompagne d'un œdème interstitiel et d'une perturbation de l'homéostasie calcique annonçant le début d'une réponse « inflammatoire » d'intensité très variable (MacIntyre et al., 1995). Selon le degré lésionnel, ces facteurs contribuent, lors de la phase différée, à une protéolyse d'éléments du

cytosquelette endommagé ou à l'extrême à une nécrose cellulaire segmentaire par hyper contraction tétanique puis déterision des zones lésées. Cependant, chez le sujet sain ce phénomène est spontanément résolutif en quelques jours et la survenue de ces symptômes s'amende rapidement lorsque l'exercice est répété.

Lors des DOMS, on constate une douleur différée apparaissant en quelques heures et persistant plusieurs jours (4 à 7 jours). Elle s'accompagne d'un déficit fonctionnel caractérisé par une diminution de la force maximale volontaire de l'ordre de 50 % de la valeur initiale pendant 24 à 48 heures, suggérant une relation de cause à effet entre la force musculaire et la réponse inflammatoire du muscle (Paulsen et al., 2010).

2. L'exercice excentrique et les dommages musculaires

L'exercice excentrique est reconnu dans la littérature comme celui qui engendre le plus de dommages et de fatigue musculaires en raison des contraintes mécaniques importantes appliquées au muscle, celui-ci développant une tension tout en s'opposant également à son propre étirement. (Dipasquale et al., 2011; Feasson et al., 2010b; Hortobagyi et al., 1996; Isner-Horobeti et al., 2013; Komi and Viitasalo, 1977; Rivera-Brown and Frontera, 2012). En effet, la force générée est plus importante que celle générée lors de la contraction concentrique ou en isométrique comme en témoigne la relation force – vitesse initialement étudiée par Katz en 1939 sur un muscle de grenouille (Katz, 1939). De plus, il existe une discrète variation de longueur (1%) des sarcomères au sein des myofibrilles. Cette modification de longueur induirait une modulation de la vitesse de contraction entre les sarcomères d'une même myofibrille (Huxley and Hanson, 1954). Ainsi, selon l'hypothèse de Fridén, (Fridén and Lieber, 1992), lors de la sollicitation excentrique, pour une même vitesse d'étirement donnée, une différence de tension importante peut apparaître entre deux sarcomères contigus, et être à l'origine de lésions au niveau du sarcomère le plus fragile. Autrement dit, les dommages musculaires ne sont pas non seulement proportionnels à la force développée, mais ils sont fonction des tensions subies par les sarcomères au cours de l'exercice. Ces tensions résultent de l'addition de la force produite par le muscle et des résistances passives inhérentes à sa structure (Lieber and Fridén, 1993). Malgré un coût énergétique moindre, le travail à forte composante excentrique impose au muscle des contraintes mécaniques importantes susceptibles d'engendrer des modifications structurales. Cependant, l'exercice excentrique n'est pas le seul à engendrer ces importantes contraintes. Même un exercice purement concentrique ou isométrique, mais de très forte intensité aboutit également à des tensions importantes pouvant occasionner le même phénomène. Il est donc

impératif de considérer ces données lorsqu'on envisage la sollicitation d'un muscle malade, fragilisé dans sa structure, limité dans sa production énergétique ou encore faisant déjà l'objet d'une inflammation chronique.

3. Les marqueurs de dommages musculaires

Parmi l'ensemble des marqueurs périphériques sensibles aux dommages musculaires, deux marqueurs indirects sont classiquement rapportés dans la littérature : les taux de créatine kinase (CK) plasmatique et de myoglobine (Mb) dans le sang (Assumpcao Cde et al., 2013; Chen et al., 2012; Del Coso et al., 2012; Howatson et al., 2012; Nosaka and Clarkson, 1992, 1996; Sakamoto et al., 1996). Si la myoglobine semble être un marqueur spécifique des dommages musculaires en phase aiguë, la créatine kinase représente le marqueur commun le plus utilisé dans la littérature.

La CK est une enzyme intramusculaire qui se répand dans le sang lors d'une lésion musculaire affectant la perméabilité du sarcolemme. C'est la raison pour laquelle, elle est utilisée comme témoin de dommages musculaires. Son taux sanguin mesuré dépendra à la fois de sa diffusion à travers le sarcolemme et de sa clairance (Clarkson et al., 1992). Au vu de la littérature, l'activité CK dans le sang atteint son pic entre le deuxième et le cinquième jour après exercice (Howatson et al., 2012; Nybo et al., 2013; Paulsen et al., 2010). Cependant, il existe une grande variabilité inter - individuelle de l'activité de CK pour les mêmes exercices en raison de la variabilité des dommages musculaires induits par l'exercice (Nosaka and Clarkson, 1996). Alors que certains sont sensibles à l'exercice et augmentent leur taux plasmatique de CK à plusieurs dizaines de fois, d'autres y sont moins sensibles malgré un exercice assez contraignant. La littérature rapporte des valeurs allant de 100 UI/L à plus de 264.000 UI en fonction de l'exercice, de sa durée, de son intensité et du type de contractions qu'il induit (Hoffman et al., 2012; Hortobagyi et al., 1998; Millet et al., 2011; Nosaka and Clarkson, 1996; Paulsen et al., 2010). Cette variabilité n'est liée ni à l'âge, ni à la race (Horska et al., 2000; Sherwood et al., 1996), mais plus à la composition du groupe de muscles sollicités et au niveau d'entraînement (cf ci-dessous). Certaines études semblent affirmer que ce taux de CK est plus important chez les hommes que les femmes en raison de la quantité de masse maigre plus importante chez les hommes que chez les femmes (Hortobagyi et al., 1998). Cependant des analyses morphométriques en microscopie sur plusieurs sujets, montrent que le taux de CK plasmatique n'est pas forcément corrélé au degré d'atteinte du tissu musculaire. Ceci suggère que l'élévation du taux de CK plasmatique témoigne d'un

certain niveau de lésion musculaire chez un sujet, sans pour autant juger de la gravité interindividuelle des lésions.

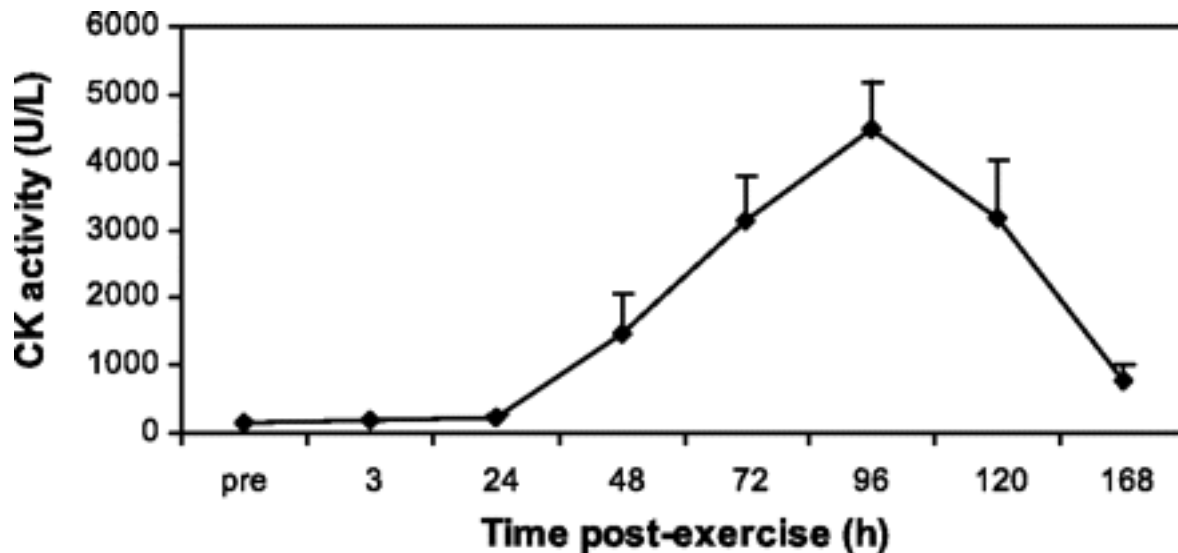


Figure 12 : L'activité de la créatine kinase (CK) en réponse à un programme d'entraînement excentrique chez de jeunes étudiants physiquement actifs. La moyenne de l'activité CK des sujets au début et à différents temps après l'exercice (Yamin et al., 2007).

4. Plasticité structurale aux courbatures

Bien que le stress mécanique exercé sur le muscle, particulièrement lors d'exercices excentriques, induit souvent des dommages musculaires, il est paradoxalement reconnu dans la littérature que la reproduction d'un même exercice réalisé quelques jours ou semaines après l'exercice initial conduit à une réduction des dommages musculaires, de la perte de force musculaire et à réduction du taux de protéine musculaire dans le sang. Ce phénomène adaptatif du muscle à l'exercice va induire une diminution des précédents phénomènes musculaires observés lors du second exercice (Dipasquale et al., 2011; Isner-Horobeti et al., 2013; Stupka et al., 2001). Cet effet protecteur de l'exercice initial sur le suivant est communément appelé par les physiologistes anglo-saxons « *the Repeated bout effect* » (RBE). Il semble également que l'efficacité de l'adaptation par l'exercice répété ne soit pas la même pour les différents groupes musculaires et qu'elle ne bénéficie pas aux groupes non exposés à la sollicitation initiale (Clarkson et al., 1987; Graves et al., 1987). En conséquence, les sujets engagés dans la pratique d'une activité physique régulière sont moins enclins à des dommages musculaires que les sujets sédentaires (Isner-Horobeti et al., 2013). Les mécanismes qui

expliquent et sous-tendent ce phénomène sont encore peu connus, mais les différentes théories d'adaptations proposées sont de trois ordres : adaptation neurale, adaptation structurale et adaptation cellulaire (Dipasquale et al., 2011; Feasson et al., 2010b).

L'adaptation neurale peut conduire à une répartition plus homogène du stress mécanique que subissent les fibres musculaires. L'analyse des mesures d'EMG lors d'un second exercice semble indiquer un glissement préférentiel de recrutement vers davantage d'unités motrices lentes et moins d'unités motrices rapides (Warren et al., 2000). Ceci conduit à une diminution des dommages musculaires par réduction de la rupture des myofilaments des fibres rapides (Nosaka and Clarkson, 1995). Le renforcement musculaire induit par la répétition de l'exercice pourrait être impliqué par des adaptations mécaniques au niveau musculaire. Des évidences expérimentales soutiennent l'idée selon laquelle une augmentation du nombre de sarcomères en série contribue aussi à l'effet protecteur de la répétition de l'exercice grâce à une réduction de l'amplitude du stress mécanique imposé par l'exercice. Dans une récente étude, Proske et Morgan (2001) ont observé en réponse adaptative du muscle à une course en descente, une augmentation significative de 11% du nombre de sarcomères en série dans les fibres musculaires. En conséquence, la longueur moyenne des sarcomères se réduit entraînant un moindre étirement de chacun des sarcomères. Cette modification structurale va induire en particulier, une meilleure protection des sarcomères face aux contraintes mécaniques exercées par l'exercice (Proske and Morgan, 2001a). D'autres études rapportent des dommages de la desmine suivis d'une restructuration très rapide avec une amplification de près de 250% qui aboutit à sa consolidation (Barash et al., 2002; Feasson et al., 2002). Or la desmine est la protéine par excellence qui intervient dans la transmission radiale des contraintes mécaniques entre les myofibrilles. Ceci pourrait expliquer de façon structurelle, l'effet protecteur observé dans le muscle suite à la répétition d'un même exercice (Lieber and Friden, 2002; Yu et al., 2004). Par ailleurs, une autre hypothèse de l'adaptation mécanique conduit à considérer que la desmine pourrait participer au renforcement transversal de sarcomères préexistants. Elle pourrait être associée à la synthèse de nouveaux sarcomères intercalés sur la longueur de la myofibrille (Feasson et al., 2006; McHugh et al., 1999). Indépendamment d'une preuve formelle de sarcomérogénèse, la littérature scientifique montre qu'il existe de nombreuses situations d'exercice pouvant favoriser l'apparition de ce schéma protecteur. Notamment, il semble qu'un étirement minimal du sarcomère soit suffisant pour engager ce processus (Koh and Brooks, 2001). En tout état de cause, il n'est pas nécessaire que l'exercice induise des

dommages tissulaires apparents pour que l'effet protecteur soit observé (Brown et al., 1997; Clarkson and Tremblay, 1988; Nosaka et al., 2001).

C. Adaptations à l'exercice

1. Adaptations musculaires

a. Contrôle de la masse musculaire

La préservation et le développement de la masse musculaire sont précieux pour le maintien d'une bonne santé. Par conséquent, la masse musculaire joue un rôle primordial dans la régulation du poids corporel, mais aussi dans la protection face à plusieurs maladies métaboliques (Brandt and Pedersen, 2010; Wolfe, 2006). Il est démontré scientifiquement que l'inactivité conduit inexorablement à une perte de masse et de force musculaire (Bodine, 2013; Campbell et al., 2013; de Boer et al., 2007; Evans, 2010; Ferrando et al., 1997; Poulsen, 2012), alors que la pratique de l'exercice assure des bienfaits importants pour le muscle notamment dans le maintien de la masse musculaire (Dideriksen et al., 2013). Cependant, les adaptations du muscle face à l'exercice sont diversifiées, variables et fonction du type d'activité physique réalisé. L'entraînement en endurance ne détermine que de faibles variations de la masse musculaire chez les jeunes adultes (Farup et al., 2012; Trappe et al., 2006) comme chez les personnes âgées (Charifi et al., 2004a; Charifi et al., 2003a; Verney et al., 2006). Cependant plusieurs études rapportent une différence significative de la surface de section des aires (CSA) des fibres musculaires des sujets physiquement actifs comparés aux sujets sédentaires du même âge, tant chez les jeunes adultes (Gollnick et al., 1972; Harber and Trappe, 2008) que chez les sujets âgés (Bamman et al., 2003; Korhonen et al., 2006; Lee and Laffrey, 2006; Wilson et al., 2012). A l'inverse, l'entraînement en force favorise une hypertrophie des fibres musculaires. Plusieurs études témoignent du rôle essentiel de l'entraînement en force dans l'hypertrophie du muscle (Mackey et al., 2011a; Schoenfeld, 2010; Snijders et al., 2009; Verdijk et al., 2009). D'un point de vue histologique, l'analyse des biopsies de sujets initialement sédentaires montre une augmentation de la surface de section des fibres suite à un entraînement de 10 à 12 semaines (Charifi et al., 2004a; Charifi et al., 2003a; Kadi et al., 2000; Kadi et al., 2004b). Chez les sujets déjà entraînés aux exercices en force, le phénomène hypertrophique est encore plus remarquable lorsqu'on les compare à une population sédentaire avec une augmentation encore plus importante (Kadi et al., 1999).

b. Cellules satellites et synthèse protéique

Plusieurs mécanismes ont été énoncés pour expliquer cet effet protecteur de l'exercice sur le maintien ou l'hypertrophie de la masse musculaire. Cette augmentation du volume musculaire pourrait être due à un accroissement de la régulation de la synthèse des protéines contractiles du muscle et à de la régulation du nombre de noyaux. D'un point de vue moléculaire, le turnover protéique qui a lieu dans le muscle dépend de la balance entre le taux de synthèse des protéines et leurs dégradations (Phillips, 2014). L'exercice physique en général, et l'entraînement en résistance (stimulus importante) en particulier vont favoriser la stimulation des voies de synthèse protéique (Favier et al., 2008).

Le nombre de noyaux est un paramètre essentiel qui permet de déterminer le potentiel de synthèse protéique d'une cellule musculaire. Toute augmentation du nombre de noyaux induit potentiellement une augmentation de la capacité de synthèse protéique de la cellule (Freysenet, 2006). Les noyaux des fibres musculaires étant post-mitotiques, ils ne peuvent se diviser. L'apport nucléaire supplémentaire est assuré par la prolifération des SCs en réponse à l'entraînement pour produire de nouveaux noyaux additionnels pour le développement de la fibre musculaire (Charifi et al., 2003b; Kadi et al., 2005; Mackey et al., 2007a). Malgré cette addition de noyaux, le domaine nucléaire ne change pas et reste constant.

Les données actuelles montrent que l'activation des SCs ne peut être attribuée qu'à des types spécifiques d'entraînement. La littérature rapporte que l'entraînement en force (Mackey et al., 2007a; Mackey et al., 2011b; Verney et al., 2008a) et en particulier l'exercice excentrique (Dreyer et al., 2006a) sont ceux qui induisent le plus d'impact sur le tissu musculaire (Hawke and Garry, 2001). Par conséquent, ce sont ceux qui permettent d'optimiser une activation et une prolifération des SCs. Cramer et son équipe rapportent que l'exercice maximal isolé augmente significativement la population des CS entre 4 à 8 jours (Cramer et al., 2004). Mais plus récemment dans l'étude de Dreyer et al. (2006), il a été montré une prolifération des CS, 24h seulement après une série d'exercices excentriques maximaux (Dreyer et al., 2006a).

Compte tenu du rôle prépondérant que jouent les SCs dans le processus de régénération musculaire, la prolifération cellulaire par le biais de l'activité physique semble être un argument en faveur du recours à l'exercice physique chez les sujets atteints de myopathie.

c. Adaptations typologiques

La classification typologique traditionnelle basée sur l'expression des isoformes des chaînes lourdes de myosine (MHC), produit des informations importantes sur le profil énergétique des

fibres telles que la force, la puissance ou la résistance à la fatigue et permet de caractériser un sujet (Bottinelli, 2001; Malisoux et al., 2007). Les sujets plus orientés vers un profil endurance ont des fibres en majorité de type I, tandis que ceux qui ont un profil force et puissance, sont en majorité composés de fibres de type IIB. Enfin ceux qui ont un potentiel à la fois endurance et force, sont en majorité composés de fibres IIA. La différence dans la distribution des fibres entre athlètes de différents sports peut être expliquée par deux facteurs essentiels. D'une part, les facteurs naturels intrinsèques liés à la génétique. Selon que le sujet est doté de fibres de type I ou de type II, il est attiré vers les sports d'endurance ou vers les sports de force (Malisoux et al., 2007). D'autre part, et de façon plus mineure, les facteurs extrinsèques liés à la sollicitation, qui dépendent du type de stimulus, du type d'entraînement auquel est soumis le sujet.

Les transitions séquentielles des fibres musculaires soumises à différents types d'entraînement confirment l'hypothèse que le muscle est capable de modifier son phénotype sous différentes conditions. Les transitions se font suivant un ordre séquentiel bien précis. Les fibres de type IIX peuvent transiter en fibres de type IIA et les fibres de type IIA en fibres de types I. Ces changements séquentiels peuvent se présenter de façon réversible et vice versa, mais ils sont souvent très rares (Malisoux et al., 2007; Pette and Staron, 1997; Stevens et al., 1999). Lors d'un entraînement en résistance, le principal effet observé sur la typologie chez les sujets est une transition des fibres de type IIX en fibre de type IIA avec une proportion de fibres de type I souvent constante ou légèrement en baisse (Andersen and Aagaard, 2010; Petrella et al., 2006; Ross and Leveritt, 2001). Cependant toutes les études ne font pas mention de cette transition. Même si la plupart des études rapportent cette transition au profit des fibres de type IIA, certaines rapportent une absence d'effet de l'entraînement en résistance sur la typologie du muscle (Mackey et al., 2007a; Mackey et al., 2011b).

2. Adaptations nerveuses

En réponse à l'entraînement physique, une des conséquences de l'hypertrophie musculaire rapportées dans la littérature est le gain de force musculaire (Aagaard et al., 2002a, b). Cependant, l'hypertrophie musculaire n'est pas le seul facteur qui explique ce gain de force. Il existe dans l'amélioration de la force musculaire, une autre composante qui explique en partie, certain gain de force musculaire alors même qu'aucune modification dans la structure du muscle n'est apparue. On parle d'adaptations nerveuses (Hortobagyi and Maffiuletti, 2011; Moritani and deVries, 1979). L'augmentation de force musculaire n'est donc pas seulement liée à des propriétés musculaires, mais aussi à des propriétés du système nerveux. La capacité

du système nerveux à recruter les unités motrices et activer le muscle semble jouer un rôle capital dans le gain de force (Hortobagyi and Maffiuletti, 2011).

Plusieurs hypothèses ont été énumérées pour expliquer les adaptations nerveuses induites à l'entraînement pour répondre à un gain de force sans hypertrophie musculaire. Comme nous l'avons souligné déjà dans ce manuscrit, la force dépend entre autres facteurs du nombre d'UMs recrutées et le recrutement des UMs se fait de façon asynchrone. L'augmentation du nombre d'UMs recrutées et/ou l'amélioration des connections entre les motoneurons et la moelle épinière lors d'une contraction permet au muscle de développer une force supérieure. Il semble que l'entraînement, et plus spécifiquement l'entraînement en force, permet une meilleure synchronisation dans le recrutement des UMs (Milner-Brown et al., 1975) et un recrutement supplémentaire des UMs (Pasquet et al., 2005). De ce fait, le muscle soumis à l'entraînement développe une force plus importante. Cependant, le niveau de synchronisation des UMs est fonction du type d'activité physique et du type de contractions (Semmler et al., 2004). Un autre facteur, qui contribue relativement au gain de force, pourrait être une augmentation de la fréquence des stimulations nerveuses (Moritz et al., 2005). Cette augmentation des fréquences de stimulation pourrait augmenter la fréquence de stimulation des unités motrices par une sommation temporelle. Même s'il n'existe pas encore de consensus, sur une probable augmentation de cette fréquence en réponse à l'entraînement, il a été observé une fréquence élevée chez des haltérophiles. Enfin, la distribution de l'activation de l'ensemble des unités motrices des muscles impliqués dans la tâche pourrait être un autre facteur possible capable d'influencer l'amélioration de la force musculaire (Shemmell et al., 2005).

3. Adaptations métaboliques

Outre le maintien de la masse musculaire et l'hypertrophie des fibres, le muscle squelettique soumis à l'exercice subit d'autres modifications en fonction du type d'entraînement. Les études montrent que le profil métabolique du muscle squelettique est très sensible à l'entraînement et la majorité de ces études rapporte des améliorations qualitatives importantes de l'activité des enzymes intervenant dans la mise en route de chaque type de métabolisme énergétique (Fluck and Hoppeler, 2003; Hood et al., 2011).

a. Réponses à l'entraînement en force

L'entraînement repose essentiellement sur l'intensité de l'exercice. Les adaptations métaboliques du muscle soumis exclusivement à ce type d'entraînement (80% - 100% VO₂max) sont assez variées. Alors que certaines études rapportent des améliorations certes minimales dans l'activité des enzymes liées au métabolisme anaérobie tels que, le phosphofructokinase (PFK), la créatine phosphokinase (CK) et le lactate déshydrogénase (LDH) (Linossier et al., 1993), d'autres études rapportent une absence de changement dans l'activité de ces enzymes (Tesch et al., 1990; Thorstensson et al., 1976). En somme, l'activité de ces enzymes semblent peut varier avec l'entraînement.

b. Réponses à l'entraînement en aérobie

Elles reposent sur les adaptations issues d'un entraînement classique d'intensité faible à moyenne (40% à 65% de VO₂max). De façon générale, l'entraînement en endurance induit rapidement une augmentation de la densité mitochondriale dans les régions sous-sarcolemmale et inter-myofibrillaires des fibres musculaires (Hood et al., 2011; Hoppeler, 1986). Cette adaptation du pool musculaire de mitochondries se traduit par une large augmentation des enzymes impliqués dans le métabolisme aérobie tels que le citrate syntase (CS), le cytochrome *c* oxydase (COX) et pyruvate déshydrogénase (PDH) (Burgomaster et al., 2006; Gibala et al., 2006; Hood and Saleem, 2007). Suite à un entraînement en endurance de 90 - 120 minutes de pédalage sur ergocycle à 65% VO₂max, réalisé 3 fois par semaine sur 2 semaines. Gibala et al. (2006) ont observé une augmentation de la capacité oxydative du muscle évaluée par l'activité COX (Gibala et al., 2006). Alors que l'activité de l'enzyme PDH augmente dans les fibres musculaires, les études ont mis en évidence une diminution parallèle de la glycolyse et une diminution de la lactatémie due à l'oxydation élevée du pyruvate mitochondrial suite à un entraînement en endurance. Ceci diminue l'acidité du muscle et contribue à la réduction de la fatigue après un entraînement en endurance (Burgomaster et al., 2003).

Aux premières adaptations enzymatiques, s'ajoute une augmentation de la densité du réseau capillaire (Brodal et al., 1977; Cabric and James, 1983; Charifi et al., 2004b; St-Amand et al., 2012). L'entraînement en endurance conduit à une multiplication du réseau capillaire qui se traduit par une augmentation du nombre de capillaires au contact de chaque fibre musculaire. L'augmentation du nombre de capillaires associés à chaque fibre est très homogène et se fait de la même façon quel que soit le type de fibres (Andersen and Henriksson, 1977). Cette

augmentation du réseau capillaire va élargir la surface d'échanges des gaz du sang et des substrats. De plus, une tortuosité micro-vasculaire est rapportée comme un mécanisme d'adaptation du muscle à l'entraînement en endurance. De plus, une augmentation de la capacité oxydative du muscle est liée à l'amélioration de la tortuosité micro-vasculaire (Charifi et al., 2004b). Cette double adaptation du nombre de capillaires et de leurs tortuosités a pour but de contribuer à une amélioration quantitative et qualitative de l'approvisionnement du muscle en oxygène et en substrats et de sa diffusion. Toutes ces transformations permettent au sujet d'améliorer sa capacité oxydative et d'obtenir une meilleure résistance à la fatigue.

4. Adaptations systémiques

a. Adaptation cardio-respiratoires

La VO_2max se définit comme la consommation maximale d'oxygène d'un individu par unité de temps. C'est la capacité du sujet à apporter un débit d'oxygène de plus en plus important par et qui est consommé par les muscles, au fur et à mesure que l'exercice se poursuit, jusqu'à une valeur maximale qu'il ne peut plus dépasser et qui correspond au stade d'arrêt de l'exercice. Estimée en valeur brute (L/min) ou en valeur relative (ml/kg/min), la VO_2max est le reflet de la puissance aérobie d'un sujet (Nikolic and Ilic, 1992). C'est l'un des principaux paramètres basiques d'investigation dans le champ de la physiologie de l'exercice, et il est souvent utilisé comme un bon indicateur de la capacité fonctionnelle du système cardio-respiratoire incluant à la fois, l'état des fonctions pulmonaire, cardiovasculaire et musculaire d'un sujet (Nikolic and Ilic, 1992; Rivera-Brown and Frontera, 2012), aussi bien qu'un marqueur de santé. Cependant, la VO_2max varie en fonction du sexe (44 ml/mn/kg chez les hommes vs. 39 ml/mn/kg chez les femmes sédentaires en moyenne), de l'âge (baisse de 10% par décennie) et des facteurs génétiques (Andreacci et al., 2004; Rivera-Brown and Frontera, 2012; Wilson and Tanaka, 2000).

Il est bien établi qu'un entraînement régulier augmente la performance physique, la capacité cardio-respiratoire traduit par une augmentation de la VO_2max dont la variation est fonction du type d'activité physique pratiquée et du niveau de performance physique du sujet sportif. Dans la littérature scientifique, la VO_2max est la variable physiologique utilisée pour évaluer les effets de l'entraînement et une augmentation de sa valeur est le témoin de l'efficacité de l'entraînement. Plusieurs études rapportent, un niveau élevé de VO_2max chez les sujets physiquement actifs (entraînés en force et en endurance) comparés à leurs homologues sédentaires appariés quel que soit leur sexe, leur âge et leur patrimoine génétique (Morgan et

al., 1995; Nikolic and Ilic, 1992; Wilson and Tanaka, 2000). La $\dot{V}O_2\text{max}$ chez les athlètes entraînés peut être deux fois plus grande que celle des sédentaires (Rivera-Brown and Frontera, 2012). Elle est estimée en moyenne à 44 ml/mn/kg pour un homme sédentaire et des valeurs de 80-90 ml/mn/kg ont déjà été observées chez des skieurs ou des coureurs de fond. La valeur de la $\dot{V}O_2\text{max}$ chez les athlètes entraînés à l'endurance est plus élevée que celle des athlètes entraînés à la force (Sakthivelavan and Sumathilatha, 2010).

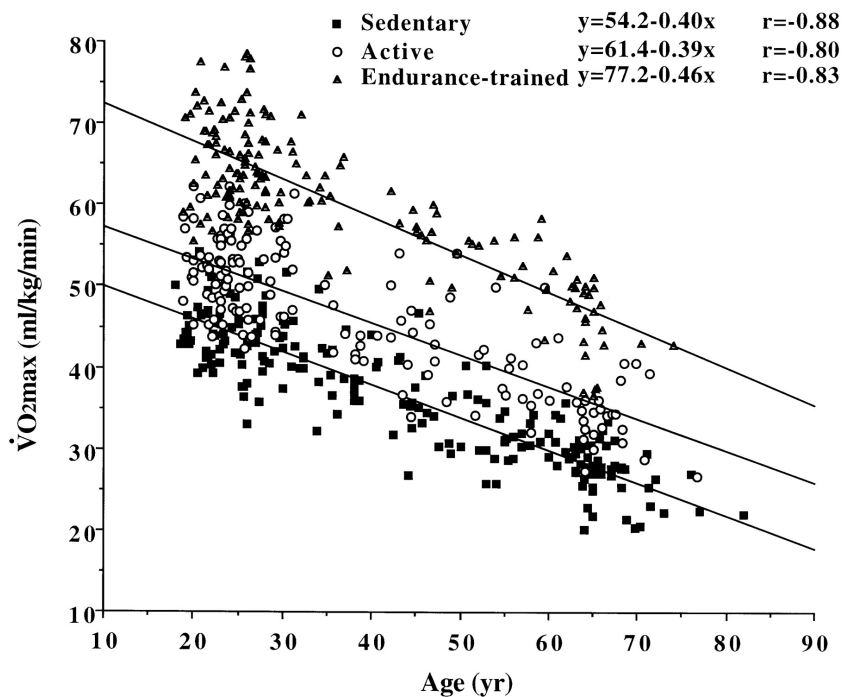


Figure 13 : Evolution de $\dot{V}O_2\text{max}$ en fonction de l'âge et du statut physique. Les sujets entraînés en endurance ont des valeurs de $\dot{V}O_2\text{max}$ supérieures à celles des sujets actifs dont la $\dot{V}O_2\text{max}$ est aussi supérieure à celle des sujets sains sédentaires (Wilson and Tanaka, 2000)

De même, un sujet sain sédentaire soumis à un entraînement physique améliore significativement sa $\dot{V}O_2\text{max}$ comparée à sa valeur initiale avant entraînement. Mais la $\dot{V}O_2\text{max}$ dépend de plusieurs facteurs tels que le niveau physique initial des sujets, le type d'entraînement, la durée, la fréquence et l'intensité des séances et enfin la durée du programme d'entraînement (Sloth et al., 2013; Tjonna et al., 2013; Tschakert and Hofmann, 2013; Wenger and Bell, 1986).

Conscients de son impact sur la santé cardio-respiratoire et physique de l'individu, le monde médical et paramédical a fait de l'exercice physique, un moyen de lutte thérapeutique dans le traitement de plusieurs maladies. L'entraînement physique, largement reconnu comme un facteur positif en terme de santé publique est un solide prédicteur de la mortalité toutes causes

confondues (Leitzmann et al., 2007). La VO_2max a été utilisée en clinique comme un marqueur de remise en forme dans plusieurs maladies. Ainsi donc, l'amélioration de la VO_2max dans les programmes de réadaptation physique dans le cadre de pathologies cardiaques, respiratoires et neuromusculaires témoigne du rôle important de l'exercice dans la prise en charge de ces maladies (Arad et al., 2008; Booth et al., 2012; Moalla et al., 2006).

b. Amélioration de la MAP et du rendement mécanique

En 1976, une équipe de chercheurs a déterminé l'intensité associée à la VO_2max mesurée, lors d'une épreuve incrémentale sur bicyclette ergométrique. Cette intensité est appelée Puissance Maximale Aérobie (PMA ou MAP) et elle correspond à la valeur de la puissance mécanique nécessaire pour solliciter la VO_2max lors d'un test incrémental (Davis et al., 1976). Plusieurs études montrent que la MAP et la VO_2max sont très corrélées (Hawley and Noakes, 1992). Ainsi donc, l'augmentation de la VO_2max s'accompagne d'une augmentation concomitante de la MAP en Watts (W) avec l'entraînement. Un autre impact de l'entraînement aérobie est l'amélioration du coût métabolique évalué à travers le rapport VO_2max/MAP . Ce rapport est calculé pour évaluer l'efficacité donc le rendement mécanique du sujet. L'entraînement peut aussi améliorer le rendement, c'est-à-dire la quantité d'énergie nécessaire à la réalisation d'un travail mécanique donné (Conley and Krahenbuhl, 1980).

IV. FATIGUE NEUROMUSCULAIRE ET QUALITÉ DE VIE

La fatigue se ressent comme une sensation d'affaiblissement pouvant survenir sans activité prolongée ou consécutivement à une journée de travail ou à des efforts physiques ou intellectuels (Sesboue and Guincestre, 2006). Le concept de fatigue recouvre deux aspects principaux : un aspect cognitif et un aspect physiologique. Alors que la fatigue cognitive se traduit par une détérioration des performances dans l'accomplissement des tâches intellectuelles et mentales et une baisse sélective de l'attention et de la concentration (Faber et al., 2012; Tanaka et al., 2012), la fatigue physiologique se manifeste par une faiblesse musculaire consécutive à la répétition d'efforts musculaires (Allen et al., 2008). La fatigue est dite aiguë ou ponctuelle, lorsqu'elle n'est qu'un état transitoire où la réduction de performance est réversible (Allen et al., 2008). Elle est dite chronique lorsque le repos ne permet pas de sortir de l'état de fatigue. Il en ressort que la notion de fatigue est un terme assez complexe qui semble relever de plusieurs facteurs bioénergétiques et psychologiques. Il est donc important lorsque nous parlons de fatigue, de définir clairement l'aspect de la fatigue auquel nous faisons référence pour mieux comprendre les mécanismes qui la sous-tendent.

La fatigue est présente dans plusieurs affections et son impact sur la qualité de vie des patients est aujourd'hui démontré. Plusieurs études rapportent l'influence négative de la fatigue chronique sur la qualité de vie liée à la santé.

A. Fatigue neuromusculaire

1. Définitions

Dans le domaine de la physiologie de l'exercice, la plupart des études sur la fatigue ont été menées au laboratoire et ont défini la fatigue comme une baisse de contraction maximale volontaire isométriques (CMV) entre avant et après un exercice (figure 14). L'une des définitions les plus courantes est celle donnée par l'équipe de Bigland-Ritchie (1984), qui définit la fatigue comme étant « toute réduction induite par l'exercice, de la capacité du système neuromusculaire à produire une force ou une puissance musculaire indépendamment de l'accomplissement ou non de la tâche » (Bigland-Ritchie and Woods, 1984). Mais, cette définition semble incomplète du fait qu'elle ne prend pas en compte la notion du temps limite auquel, la tâche peut être soutenue. Enoka et Stuart (1992) proposent une définition plus complète de la fatigue neuromusculaire en la définissant comme une « altération aiguë de la performance qui réunit à la fois une augmentation de la perception de l'effort nécessaire pour

produire une force requise et une éventuelle incapacité à maintenir cette force de façon continue ou répétée » (Enoka and Stuart, 1992).

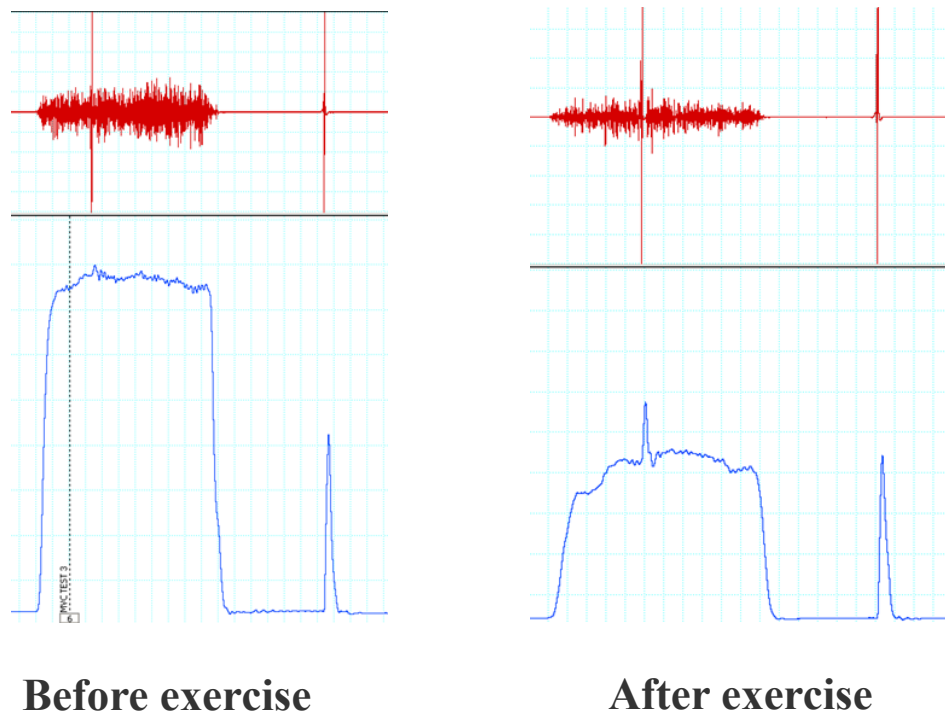


Figure 14 : Effet d'un exercice fatiguant sur la contraction maximale volontaire, la stimulation surimposée et la force évoquée sur le muscle relâché (tracé bleu). La courbe rouge représente l'EMG associé. Dans cet exemple, la fatigue centrale est majoritaire, la fatigue périphérique est faible. D'après Millet et al. 2011.

Ces deux définitions renvoient à deux notions : La notion de baisse de la force maximale de l'individu et la notion de la capacité du sujet à maintenir ou non sa tâche malgré l'apparition de la fatigue. Ces deux définitions font parfois référence respectivement à la fatigue et à l'épuisement. En conséquence, la fatigue intervient dans l'accomplissement d'une tâche physique spécifique et peut être évaluée par la réduction de la force maximale volontaire (CMV). Le temps limite pendant lequel le sujet peut maintenir son effort pour réaliser sa tâche (i.e. temps à l'épuisement) rend compte de la notion de l'endurance musculaire.

2. Mécanismes

Dans la contraction volontaire, le muscle est activé par la mise en route d'une cascade d'évènements complexes commençant dans le cortex et conduisant à une excitation du neurone moteur dans la moelle épinière, qui à son tour va conduire l'influx nerveux moteur jusqu'à la jonction neuromusculaire pour ensuite induire une action du muscle comme le montre la figure 15 (Allen et al., 2008). Généralement, la réalisation d'une CMV soutenue est

souvent difficile pour un sujet. C'est pourquoi dans les protocoles de recherche, on aide le sujet à maintenir son effort le plus longtemps possible par des encouragements malgré la fatigue qui se fait ressentir afin de limiter le rôle du facteur motivation. Il est possible de faire la part entre ce qui relève du contrôle du système nerveux central et ce qui relève du muscle afin d'identifier l'emplacement précis où est localisé le mécanisme neurobiologique à l'origine de la fatigue. Une défaillance sur n'importe quel site de cette chaîne ouverte de commandes (figure 15), conduit à une diminution de la production de force. Souvent, la fatigue ne peut être attribuée à un processus physiologique précis, mais à une altération de plusieurs mécanismes combinés. Habituellement, on différencie la fatigue associée aux mécanismes en amont de la jonction neuromusculaire de ceux liés aux mécanismes en aval de la jonction neuromusculaire. . On parle alors respectivement de fatigue centrale (ou nerveuse) (Gandevia, 2001) et périphérique (ou musculaire) (Barry and Enoka, 2007; Rassier and Macintosh, 2000; Sesboue and Guinestre, 2006).

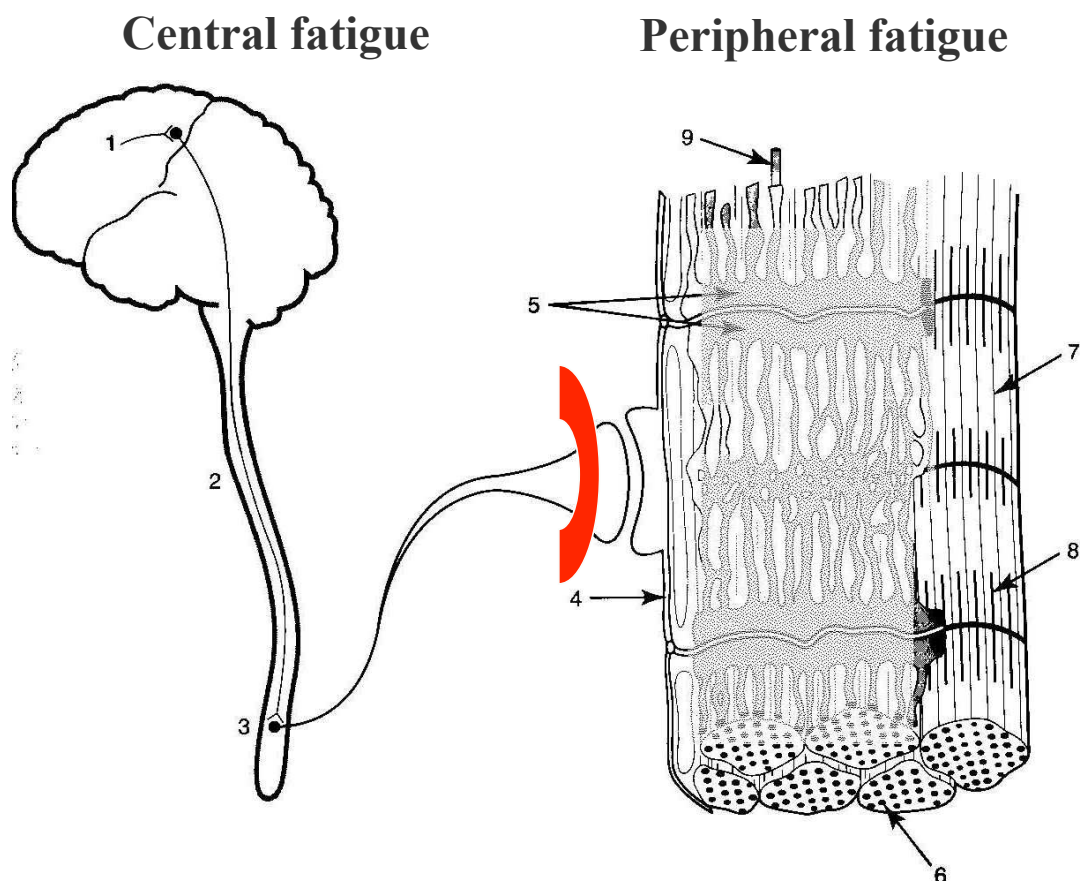


Figure 15 : Sites potentiels de la fatigue neuromusculaire (d'après Bigland-Richie 1986)

1. Activation du cortex moteur; 2. Potentiels d'action descendants; 3. Ums actives. 4. Propagation neuromusculaire. 5. Couplage excitation – contraction; 6. Disponibilité en substrats; 7. Milieu intracellulaire; 8. Appareil contractile. 9. Flux sanguin

Plusieurs études menées dans le champ de la fatigue neuromusculaire (Bigland-Ritchie et al., 1986; Edwards, 1981) révèlent que la fatigue dépend du type d'exercice et de la contrainte imposée au muscle., i.e la fatigue neuromusculaire est dite tâche - dépendante (Hunter, 2009; Hunter and Enoka, 2001).

B. Explorations de la fatigue neuromusculaire

1. Principes d'exploration

La littérature fait aujourd'hui état d'une multitude de protocoles et méthodes d'évaluations qui permettent d'identifier la fatigue centrale vs. la fatigue périphérique.

a. Fatigue centrale

La fatigue centrale se définit comme une réduction du niveau d'activation pendant un exercice dont les mécanismes responsables sont liés à des processus plus proximaux, notamment au niveau spinal et supraspinal (Gandevia, 2001). Elle est parfois considérée comme un mécanisme mis en jeu par l'organisme pour économiser le muscle avant un seuil de fatigue périphérique (Amann et al., 2006) et préserver les organes vitaux (Noakes, 2012). Parmi les méthodes disponibles, deux méthodes indirectes souvent utilisées, permettent d'évaluer la fatigue centrale. Ce sont les méthodes d'analyse de l'électromyographie (EMG) (Bigland-Ritchie, 1981) et de calcul du pourcentage d'activation (%AV) (Allen et al., 1995).

Electromyographie EMG : Le signal EMG lors d'une CMV représente l'ensemble des caractéristiques liées au recrutement spatial et temporel des unités motrices, c'est-à-dire le nombre global et la fréquence de décharge et la synchronisation des unités motrices (UMs) activées (Chesler and Durfee, 1997; Menotti et al., 2012). La méthode EMG consiste à comparer les variations de ce signal EMG maximal (souvent quantifié sous forme de valeur RMS, Root Means Square) que l'on normalise par l'amplitude de l'onde M. Le signal EMG donne des informations à la fois sur les paramètres nerveux et périphériques de la commande motrice sans pour autant faire la différence entre les deux phénomènes. La normalisation de la RMS à l'onde M, donne des indices sur la commande centrale (Todd et al., 2003), mais sa reproductibilité reste discutable (Place et al., 2007).

Niveau d'activation maximale volontaire (%AV) : Cette technique a été adoptée comme le standard dans l'évaluation de la fatigue centrale chez l'humain. La stimulation électrique avec la technique de la secousse surimposée appelée « twitch interpolation technique » lors d'une CMV permet de quantifier ce pourcentage d'activation maximale (Merton, 1954). Il s'agit de mesurer l'augmentation de la force du muscle lors d'une stimulation du nerf, i.e. lors d'une secousse surimposée à une CMV et à comparer cet incrément de force à la même secousse réalisée sur le muscle relâché. Plus le muscle est volontairement activé et plus l'augmentation de force due à la secousse est faible. En clair, la taille de la secousse est inversement proportionnelle au degré d'activation du muscle (pour une même twitch sur muscle relâché). De ce point de vue, la fatigue centrale peut donc être définie comme la réduction de l'activation volontaire maximale (Gandevia, 2001). Cette différence de force lors de la stimulation du nerf s'explique par le fait que lors d'une CMV à l'épuisement, il y a moins d'unités motrices recrutées ou que la fréquence de décharge de ces unités motrices n'est pas suffisante pour permettre un téтанos parfait. Il s'agit d'une activation incomplète des UMs, à la fois spatiale et temporelle (Belanger and McComas, 1981).

La technique des doublets potentiés (Allen et al., 1998; Place et al., 2007) est une autre façon de quantifier le %AV. Cette méthode consiste en la comparaison de l'amplitude d'un doublet (évoque à haute fréquence) surimposé à un CMV à l'amplitude de la réponse du muscle lors du même doublet évoqué sur le muscle relâché (stimulation au repos en Db potentié). Plusieurs travaux sur la fatigue témoignent de l'efficacité de cette nouvelle technique qui semble être plus pertinente: Ce %AV se calcule alors selon la formule ci- dessous.

<p>Pourcentage d'activation maximale volontaire (%AV)</p> <p style="text-align: center;">=</p> $(1 - (\text{amplitude du doublet surimposé } Db_{100} / \text{amplitude du doublet potentié } Db_{100})) \times 100$
--

b. Fatigue périphérique

L'idée de la fatigue périphérique renvoie à des défaillances depuis la transmission de l'influx nerveux au niveau de la plaque motrice jusqu'au la force crée au niveau des ponts d'union actine-myosine. Chacun des quatre sites suivants peuvent être impliqués dans des dysfonctionnements à des degrés divers : la jonction neuromusculaire, sarcolemme, couplage excitation – contraction et enfin formation des ponts d'union. Dans la littérature, différentes

méthodes sont évoquées pour évaluer de façon non invasive ces différents dysfonctionnements.

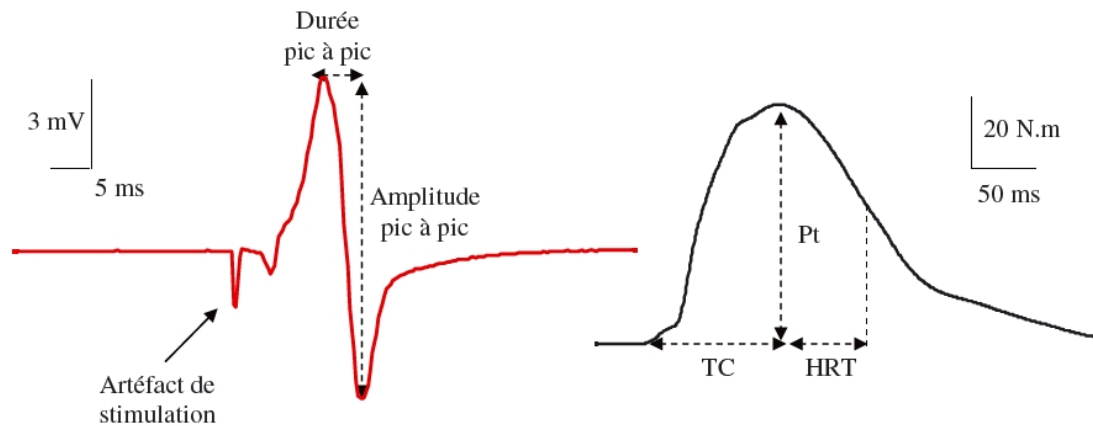


Figure 16 : Les réponses électrique (onde M) et mécanique (twitch) du muscle (D'après Lepers R, Movement et Sports Sciences, Edition EDP sciences, 2010). L'onde M maximale est à gauche et la secousse musculaire à droite pour le même muscle *vastus latéralis*. Pt = pic de moment ; TC = Temps de contraction ; HRT = demi – temps de relaxation.

L'étude de la relation force - fréquence à travers des trains de stimulations continus à différentes fréquences est une des méthodes qui permet d'étudier les défaillances au niveau de la propagation/excitabilité – contraction du muscle (Edwards et al., 1977). La littérature rapporte l'existence d'une fatigue basse fréquence (lorsque la perte de force induite par des stimulations d'une fréquence de l'ordre de 10-20 Hz est plus importante que la perte de force induite par des stimulations à 50 Hz – 100Hz) et une fatigue haute fréquence (lorsque c'est l'inverse). Le ratio de ces deux réponses mécaniques mesurées sous forme de doublets à basse et haute fréquence (plutôt que sous forme de trains de stimulation) permet aussi de déterminer le type de fatigue périphérique (Verges et al., 2009b). La fatigue basse fréquence est caractérisée par une récupération lente et semble être attribuée à une altération du couplage excitation – contraction consécutive à une réduction du largage du Ca^{++} (Westerblad et al., 1991). C'est ce qui se produit par exemple après un exercice excentrique. À l'opposé, la fatigue haute fréquence est caractérisée par une récupération rapide et semble être attribuée à une défaillance de l'excitabilité du sarcolemme (Jones et al., 1979) consécutive à une altération de l'activité de la pompe Na^+/K^+ ATPase (Renaud and Comtois, 1994).

L'altération au niveau de l'activité électrique du sarcolemme peut être aussi objectivée par une perte rapide d'amplitude et un allongement de l'onde M. Cependant, les modifications observées au niveau de l'onde M restent très variables et peu reproductibles. Bien que cette baisse de l'amplitude de l'onde M ait été observée dans certaines études (Bellemare and Garzaniti, 1988), d'autres études sur les muscles humains in situ, ont trouvé peu ou pas de

changement (Matsuo et al., 2013; Merton, 1954), ou encore une augmentation (Fitch and McComas, 1985). Même après un exercice prolongé de faible intensité, certaines études rapportent une modification non significative de l'onde M (figure 16). De plus, la littérature rapporte l'existence d'une large variabilité de la valeur de l'onde M entre les études (Lepers et al., 2001; Millet and Lepers, 2004; Millet et al., 2002; Millet et al., 2003).

2. Outils d'exploration

a. Intérêts et limites de la stimulation nerveuse électrique

Depuis de longues années, l'électrostimulation a prouvé son innocuité et s'est imposée comme l'un des outils les plus fiables d'évaluation de la fatigue. La littérature regorge de nombreux protocoles d'investigation clinique de la fonction neuromusculaire ou dans des champs de recherche fondamentale plus larges. L'électrostimulation (ES) reste probablement, l'outil d'investigation le plus utilisé dans l'évaluation de la fatigue neuromusculaire en clinique et en recherche. Les changements périphériques et centraux peuvent être évalués avec fiabilité, en stimulant le muscle avant, pendant et après un exercice fatiguant par ES.

Cependant, quelques limites dans l'application des techniques existent. Par exemple, la méthode standard d'évaluation de la fatigue périphérique est la stimulation du nerf moteur du muscle étudié, en vue de recruter le maximum d'UMs. La limite principale de cette méthode est son inconfort pour le patient. Pour certains groupes musculaires, elle peut aussi induire une co-activation d'autres groupes musculaires proches (Millet et al., 2012).

b. Intérêts et limites de la stimulation nerveuse magnétique

Au cours de ces deux dernières décennies, un nouvel outil d'évaluation de la fonction neuromusculaire a été mis en place : la stimulation magnétique. Après l'introduction de la stimulation magnétique transcrânienne en 1985, il a fallu attendre les années 1990 pour voir la stimulation magnétique (SM) être appliquée aux nerfs moteurs périphériques des muscles respiratoires (Kyroussis et al., 1996) et du muscle quadriceps (Polkey et al., 1996; Polkey et al., 1995) chez l'homme. En termes de résultats, la SM a prouvé sa fiabilité et sa reproductibilité lorsqu'elle est comparée à l'outil de référence : l'ES. Les procédures et les résultats de supra-maximalité et de potentialisation restent relativement identiques et la SM permet aussi d'évaluer la fatigue centrale que périphérique (Verges et al., 2009a). En plus d'être aussi fiable que l'ES, elle apporte l'avantage d'être mieux tolérée par les sujets (Millet et al., 2012). Elle apparaît ainsi comme un outil intéressant dans l'évaluation de la fonction

neuromusculaire en clinique, comme par exemple chez les patients atteints de MNMs ayant en permanence des douleurs et une fatigue musculaire (Szecsi et al., 2010).

Quelques limites de la SM ont cependant été évoquées, par exemple l'incapacité du matériel à produire une supramaximalité particulièrement chez les sujets en surpoids (Tomazin et al., 2011). L'évaluation de la fatigue au niveau périphérique semble donc être limitée dans certains cas, par la limitation des stimulateurs magnétiques à délivrer des intensités de stimulation suffisamment importantes.

3. Autres outils d'évaluation de la fatigue: Echelle de sévérité de la fatigue (FSS)

D'autres méthodes d'évaluation de la fatigue existent dans la littérature. Ce sont pour la majorité d'entre elles, des questionnaires d'évaluation subjective de la fatigue qui prennent en compte l'appréciation du patient sur son propre état de fatigue. Une récente revue de la littérature montre que l'échelle de sévérité de la fatigue (FSS) est le questionnaire validé le plus utilisé et dans de nombreuses maladies différentes (Hjollund et al., 2007). Il s'agit d'un court questionnaire développé en 1989 comprenant neuf items cotés de 1 à 7. La valeur minimale (1) indique le désaccord du patient avec l'énoncé alors qu'une valeur maximale (7) indique que le patient est totalement en accord avec l'énoncé. Ainsi, plus le score global est élevé, plus la fatigue ressentie par le patient est intense. Ce score est de ce fait inversement corrélé à la dimension *validité* évaluée chez les patients à partir du questionnaire de qualité de vie SF-36 (Neuberger, 2003).

C. Notion de qualité de vie et outils d'évaluation

La qualité de vie (QdV) est un concept dynamique, large et complexe dont la définition varie en fonction des peuples à différentes périodes de leur évolution, de leurs désirs, de leurs attentes, de leur satisfaction et du domaine dans lequel il doit s'appliquer (Barofsky, 2012; Tate and Forchheimer, 2002; Tengland, 2006). La QdV est une donnée subjective dans la mesure où elle repose sur un concept d'auto-évaluation du sujet. Indépendamment des données issues des analyses de mesures objectives, le point de vue du patient devient une entité importante à prendre en compte pour évaluer l'impact d'un traitement (Ware et al., 2008). En dépit des difficultés à l'évaluer, l'intérêt de la recherche pour QdV a largement grandi ces dernières années. En 20 ans, le nombre de travaux de recherche a littéralement

flambé et l'inclusion des mesures de la QdV dans les projets de recherche liés à la santé est devenue un standard international (Leplege and Rude, 1995; Tate et al., 2002).

1. Définitions

Bien qu'il existe plusieurs définitions, tous les auteurs s'accordent à dire que la QdV converge vers le même sens, celui de la satisfaction et du bonheur de l'homme. Dans ce contexte, quelle que soit la définition à lui attribuer, la QdV se réfère aux aspects liés à l'état de santé, au fonctionnement physique, à l'état psychologique, au bien-être, à la satisfaction de la vie ou au bonheur éprouvé par le sujet (Barofsky, 2012; Tate et al., 2002; Tengland, 2006). Dans le domaine médical, les cliniciens-chercheurs ont proposé une définition de la QdV en lien avec les aspects de la santé, c'est-à-dire les aspects de la santé qui peuvent être influencés par la maladie et/ou son traitement. Ainsi, la QdV prend en compte, les aspects de la santé physique, de la santé psychologique (anxiété, émotion, dépression), de l'intégration sociale, du relationnel et de l'image de soi pour ne citer que ceux-là.

2. Outils d'évaluations

Des outils scientifiques ont été mis en place pour évaluer la QdV du patient. Deux méthodes sont souvent utilisées :

- L'entretien psychologique, qui permet une évaluation plus profonde et multidisciplinaire. Cependant, il est difficile de le quantifier en raison d'une reproductibilité peu fiable et des difficultés de standardisation.

- Les outils psychométriques : ils regroupent les échelles et les questionnaires permettant ainsi une évaluation plus restreinte de la QdV. Cependant, ils ont l'avantage de fournir des mesures standardisées. La plupart de ces questionnaires proposent en général des réponses dichotomiques c'est-à-dire des réponses fermées (oui/non) ou des réponses graduées en terme d'intensité par exemple (pas du tout/un peu/ assez/ beaucoup). Dans la littérature, on recense plusieurs centaines de questionnaires de QdV. Parmi les plus fiables, on distingue notamment le SF36 qui est le plus utilisé sur le plan international. Il comporte 36 items regroupés en huit dimensions : fonction physique (PF -10 items), limitations causées par l'état physique (RP - 4 items), les douleurs physiques (BP - 2 items), santé générale perçue (GH - 5 items), vitalité (VT - 4 items), participation sociale (SF - 2 items), limitations causées par les problèmes émotionnels (RE - 3 items), santé psychique (MH - 5 items) (Ware and Sherbourne, 1992). Chacun des items présente des scores allant de 0 (le plus faible) à 100 (le meilleur). Les 8

dimensions sont regroupées à leur tour en deux grandes catégories : la santé physique (PF – RP – BP – GH) et la santé mentale (VT - SF - RE - MH) (Bensoussan et al., 2001). À l'origine en langue anglaise et adaptée aux maladies comme le diabète, l'insuffisance respiratoire ou l'infarctus cardiaque, ce questionnaire qui a été traduit, adapté et validé en français (Leplege et al., 1995; Perneger et al., 1995). Depuis, il a fait ses preuves dans plusieurs autres domaines de maladies y compris dans le contexte des maladies neuromusculaires (Martinez et al., 2001; Stolwijk-Swuste et al., 2008). Il existe aussi des évaluations sous forme d'échelle comme l'échelle visuelle analogique qui permet d'apprécier un état de fatigue ou de douleurs perçues sur une droite de 10 cm comportant des valeurs chiffrées (de 0 à 10) ou verbales (de : pas du tout à énormément) aux deux extrémités.

V. PATHOLOGIES MUSCULAIRES ET EXERCICE

Toutes les myopathies répondent de la définition des maladies rares, en concernant moins d'une personne sur 2000. Cela implique l'absence de cohorte homogène importante pour une même étiologie. Elles sont néanmoins nombreuses et de phénotypes hétérogènes. Parfois acquises et transitoires, mais le plus souvent génétiquement déterminées et chroniques, elles se manifestent par un déficit moteur d'installation plus ou moins précoce, stable ou de progression rapide ou lente et de gravité variable comme cela est le cas pour la plupart des pathologies structurales (dystrophies et myopathies congénitales). Moins prononcées, d'autres myopathies se manifestent par une fatigabilité à l'exercice prolongé, témoin d'une intolérance à l'effort relevant le plus souvent d'anomalies métaboliques. La sévérité et la distribution topographique du déficit sont elles-mêmes variées, imposant l'adaptation des activités physiques et l'usage d'ergomètres personnalisés. Leurs processus physiopathologiques sont aussi divers que complexes et demeurent encore mal connus. Cependant, lors de la préconisation de l'exercice, il est nécessaire de prendre en compte ces mécanismes. Ainsi, les myopathies pourraient être grossièrement distinguées selon deux grandes entités:

1. Les myopathies d'origine génétique. Elles comprennent les dystrophies musculaires, les myopathies congénitales et myofibrillaires principalement définies par leurs défauts structuraux parmi lesquelles la myopathie de Duchenne (DMD) et la FSHD et d'autres cas d'atteintes plus rares : les myopathies métaboliques, endocriniennes ou iatrogènes dominées par des défaillances de production énergétique.
2. l'ensemble des myosites et de certaines dystrophies caractérisées par la présence d'une réaction inflammatoire comme par exemple les myosites chroniques qui représentent ~ 8 à 10% des patients accueillis aux consultations du Centre Référent NM Rhone Alpes.

Dans le premier cas, le degré de fragilisation structurale, à l'instar des dystrophies, sera le paramètre principal à considérer face aux contraintes imposées par l'exercice. Dans les pathologies dysmétaboliques, le défaut de production énergétique orientera la stratégie envisagée pour réaliser l'effort physique.

Ce constat de contraintes d'application aux études expérimentales impose à lui seul la nécessité d'évaluations multidimensionnelles. Des mesures métaboliques les plus intégrées aux études tissulaires, cellulaires et moléculaires s'avèrent indispensables à l'appréciation de

l'innocuité et/ou du bénéfice obtenus à l'issue d'un programme d'entraînement. Il s'agit non seulement de mesurer un gain de force, d'estimer l'amélioration de l'aptitude fonctionnelle et de l'autonomie, d'évaluer la résistance à l'effort, mais aussi de s'assurer de la perception par le patient de la fatigue et de la douleur potentiellement engendrées ainsi que du retentissement de cette activité sur sa qualité de vie.

A. THÉRAPIE PAR L'EXERCICE ET MYOPATHIES

1. Intérêt de l'exercice dans les myopathies

En l'absence d'un traitement curatif pour les myopathies génétiques ou en complément dans celles acquises, un accompagnement thérapeutique basé sur de l'activité physique adaptée est proposé, mais discuté. Bien conscients de l'effet néfaste de la sédentarité, les patients eux-mêmes sollicitent fréquemment l'avis médical pour une prescription d'activité sportive afin de sortir de la passivité face à la maladie. Qu'il soit contrôlé ou non, cet engagement sportif est synonyme d'une participation à la vie sociale et d'une sensation de bien-être. Par contre, la difficulté principale du prescripteur réside dans le choix d'un programme adapté et bénéfique tout en respectant les limites tolérables par le muscle malade. De ce fait, il est illusoire d'espérer pouvoir préconiser un protocole et une intensité d'exercice standard d'entraînement ou de renforcement musculaire. Pour cela les objectifs doivent être clairement identifiés. Le bénéfice principal attendu est l'amélioration (et/ou le maintien) de l'aptitude fonctionnelle et de l'autonomie. Il s'agit donc de maintenir ou d'améliorer la force musculaire et de lutter contre le déconditionnement cardio-respiratoire et métabolique lié à la sédentarité. Un effet antalgique ou décontracturant est également envisageable, mais il n'existe pas à notre connaissance d'études permettant d'étayer cette assertion.

2. Nécessité d'un travail physique encadré

Une revue systématique de la littérature effectuée à partir de Medline, de Cochrane database, des sites web « myobase » et « orphanet », en utilisant les mots clés : *Exercise therapy, endurance, aerobic, strength, resistance-training or exercise or physical activity* et *myopathy, dystrophy, myositis, neuromuscular diseases*, rapporte plusieurs milliers de références dont une cinquantaine de revues. La plupart des cas rapportés dans la littérature sont essentiellement des cas cliniques et des témoignages de pratiques de l'exercice physique chez des sujets porteurs de maladies neuromusculaires. Cependant, trop rares sont les travaux de niveau de preuve satisfaisant, randomisés ou contrôlés et relevant spécifiquement des

myopathies. Les méta-analyses issues des revues (Cup et al., 2007; van der Kooi et al., 2005) et des rapports de conférences de consensus et workshop (Eagle, 2002; Fowler, 2002; Gilardeau, 2001) les plus récentes s'entendent à dire globalement que le travail actif « encadré » ou « adapté » n'est pas contre-indiqué et qu'il peut même être source d'effets bénéfiques. Le premier de ces bénéfices envisageables est une amélioration fonctionnelle alors même que le gain analytique de la force n'est pas systématique. De même, il est accepté que ce type d'entraînement permet de lutter efficacement contre l'amyotrophie et le déconditionnement lié à la sédentarité. Quant aux avantages psychologiques, ils sont indéniables, que ce soit au niveau du renforcement de l'image de soi, de l'intégration sociale ou encore de la réduction de l'anxiété et de la dépression. Les effets secondaires délétères de la thérapie par l'exercice sont nuls ou négligeables.

3. Les modalités envisageables de l'exercice

L'analyse plus détaillée d'une trentaine d'études randomisées ou contrôlées (Cup et al., 2007) rapporte que la meilleure pertinence (niveau 2 : efficacité probable) est obtenue par l'association d'exercices de renforcement musculaire ciblés et d'un entraînement aérobie. L'interprétation de cette analyse doit néanmoins être tempérée par le fait que l'essentiel des études porte sur des patients atteints d'une dystrophie myotonique ou d'une FSHD et plus rarement de myosites chroniques. Par ailleurs, et très certainement en raison des contraintes de mise en œuvre pratique, l'entraînement aérobie modéré est souvent programmé seul. De façon globale, il augmente significativement la capacité oxydative, la résistance à la fatigue et la tolérance à l'effort lié aux activités quotidiennes. Cela se traduit par un gain fonctionnel et en qualité de vie particulièrement sensible dans ces formes à évolution lente. Toutefois, cette efficacité demeure nuancée selon les fonctions motrices, à l'image de la pratique régulière de la marche qui n'améliore que modestement le déficit distal myopathique. Les données sur le recours à l'entraînement en force seul (à haute intensité, quasiment maximale) sont encore plus contradictoires. Il semble intéressant, au moins à court terme, pour les myopathies faiblement progressives (structurales ou inflammatoires stabilisées), alors qu'il reste controversé pour les pathologies structurales « instables » de type dystrophique. Des réserves s'imposent d'autant plus que la plupart des études utilisant cette modalité d'exercice, le font sur court ou moyen terme (d'un à trois mois). Sur ce type de durée, il est classiquement observé un ralentissement des progrès avec le temps, mais l'effet réel à plus long terme demeure mal connu. Ajoutés à cela, les gains de force ne sont pas obligatoirement accompagnés de gains fonctionnels et l'absence quasi systématique d'évaluation de la qualité

de vie, lors de ces études, ne permet pas d'assurer la supériorité de l'amélioration du patient par rapport aux contraintes de ce type de protocole d'exercice. Enfin, il n'existe pas de données concernant l'évolution du potentiel régénératif du tissu musculaire de patients myopathes soumis à un entraînement durable.

B. Cas de la Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale

1. Description

Les dystrophies musculaires sont un groupe hétérogène de troubles musculaires héréditaires caractérisés par une distribution et des degrés variables de l'atrophie, de la faiblesse et de la dégénérescence du muscle squelettique (Emery, 1998; Pandya et al., 2008; Tawil, 2008). Les trois formes héréditaires les plus courantes de dystrophies musculaires regroupent, la dystrophie de Duchenne (DMD), la dystrophie myotonique (MD) et la FSHD (Emery, 2002).

a. Définition et prévalence

Décrite pour la première fois en 1885 par les neurologues français Landouzy et Dejerine, la FSHD anciennement appelée maladie de Landouzy-Dejerine est considérée comme la troisième maladie héréditaire des muscles la plus fréquente après les DMD et MD (Emery, 2002). On manque de données précises sur sa prévalence en raison de sa variabilité d'un pays à un autre. Généralement, la prévalence est admise en moyenne à 1 personne sur 20 000 (Scionti et al., 2012; van der Maarel et al., 2007). Elle concernerait donc 3 000 à 4 200 personnes en France. Selon les récents rapports publiés par le groupe Orphanet, cette prévalence est probablement sous-estimée en raison du fait que la maladie reste souvent non détectée.

Bien que l'apparition de la FSHD soit extrêmement variable, les premières manifestations cliniques de la maladie apparaissent souvent à l'adolescence entre 10 et 20 ans (Attarian et al., 2012; Scionti et al., 2012; van der Maarel et al., 2007). Dans l'ensemble des cas, seulement 5 à 10% des enfants ou des jeunes enfants développent la maladie. La FSHD touche autant les hommes que les femmes. Mais la littérature rapporte que les hommes développent une forme plus sévère tandis que les femmes présentent une forme plus atténuée ou asymptomatique (Richards et al., 2012; Tonini et al., 2004; Zatz et al., 1998).

b. Manifestations cliniques de la FSHD

La FSHD tire son nom des groupes de muscles qui sont principalement les premiers touchés : les muscles de la face, de la ceinture scapulaire et de l'humérus (Pandya et al., 2008; Richards et al., 2012; van der Maarel and Frants, 2005; van der Maarel et al., 2007). L'implication particulière de ces muscles spécifiques est l'une des caractéristiques cliniques frappantes de la FSHD souvent utilisée pour la distinguer des autres formes de dystrophies musculaires (Padberg et al., 1991). Les muscles faciaux sont en général, les premiers touchés avec une difficulté à siffler et à fermer fortement les paupières ou à sourire. Dans la plupart des cas, l'atteinte musculaire progresse lentement du haut vers le bas du corps avec de longues périodes de stabilité entrecoupées par des poussées soudaines de dégradation (figure 17). La maladie se propage vers les muscles de la ceinture scapulaire suivis par les muscles abdominaux, la ceinture pelvienne et des membres inférieurs (Upadhyaya and Cooper, 2002; van der Maarel et al., 2007).

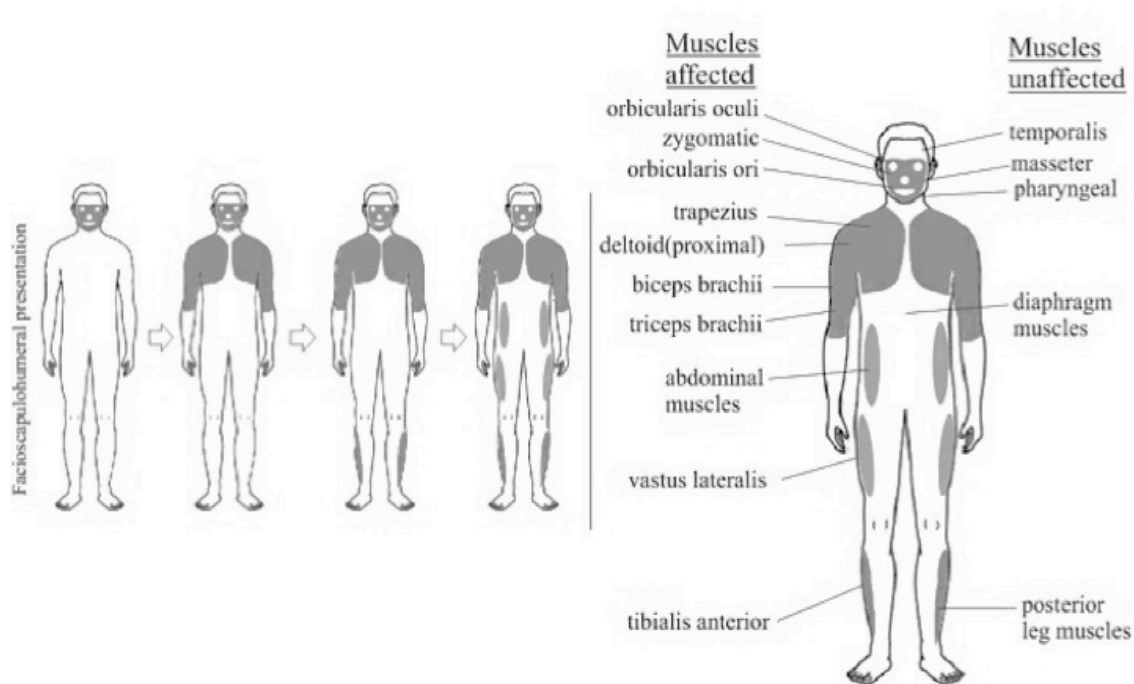


Figure 17 : Schéma évolutif de la FSHD. Généralement, la maladie commence par les muscles du visage. À gauche sont répertoriés les muscles atteints et à droite, les muscles non – atteints (Image modifiée à partir de (Emery 1998))

L'atteinte scapulaire attire davantage l'attention des patients. Elle se traduit par un décollement scapulaire consécutif à une atrophie du muscle trapèze et engendre des difficultés à lever les bras. L'atteinte du biceps et du triceps entraîne une atrophie du bras tout en

épargnant les muscles de l'avant – bras, formant un aspect de « bras de Popeye » (Sacconi et al., 2014) . L'affaiblissement des muscles du tronc se manifeste par une lordose tandis que celui des muscles tibial antérieur et péronier va créer un « steppage » à la marche des patients (Lunt and Harper, 1991; Richards et al., 2012; van der Maarel et al., 2007). De plus, le degré d'atteinte dystrophique des muscles varie d'un muscle à l'autre pour le même sujet (figure18) (Sacconi et al., 2014)

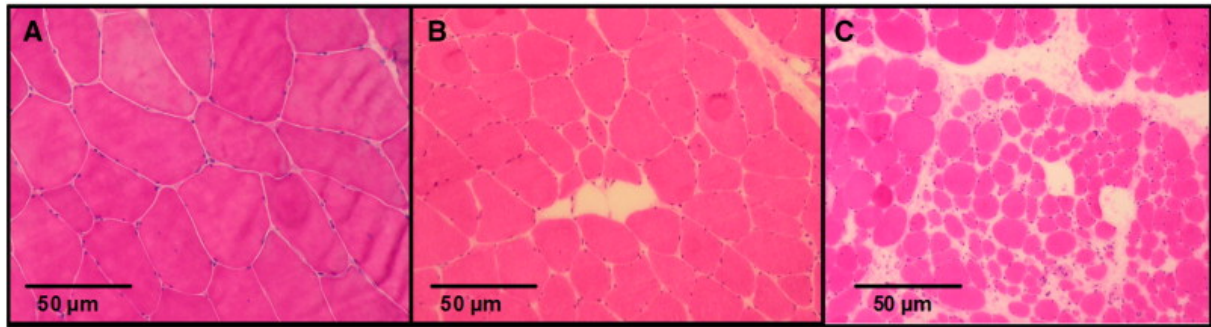


Figure 18 : Sélectivité de l'implication musculaire de différents muscles chez le patient atteint de FSHD. Le degré d'atteinte dystrophique des muscles diffère d'un muscle à l'autre. A) Deltôïde; de légères modifications musculaires, l'augmentation du pourcentage de noyaux internalisés, l'augmentation de la variabilité du type de fibre avec quelques fibres musculaires atrophiées (partiellement). B) Biceps: changements myopathiques modérés. C) Trapèze: modifications dystrophiques avancées (Sacconi et al., 2014).

Une des caractéristiques principales qui distingue la FSHD des autres dystrophies est l'asymétrie frappante de l'atteinte musculaire et la grande variabilité de son expression clinique inter et intra-familiale. Les muscles d'un côté du corps semblent beaucoup plus atteints que de l'autre côté chez le même individu et la maladie peut aller d'une forme asymptomatique à une forme très grave d'une personne à une autre y compris au sein d'une même famille. 20% de patients peuvent éventuellement nécessiter le recours au fauteuil roulant (Padberg et al., 1991; Richards et al., 2012). Cependant, le mécanisme qui sous-tend ce phénotype asymétrique dans la FSHD reste encore inconnu (Pandya et al., 2008).

Des manifestations cliniques extra-musculaires viennent davantage compliquer le tableau clinique de la FSHD avec une perte auditive souvent bilatérale qui s'aggrave avec l'âge et une tégangiectasie rétinienne, qui atteignent respectivement 75% et 60% des patients (Padberg et al., 1995; Tawil et al., 2010). Des troubles du système nerveux central avec des difficultés d'apprentissage ont été rapportés surtout dans les cas d'atteinte sévère chez l'enfant (Saito et al., 2007). D'autres manifestations cliniques moins fréquentes telles que l'insuffisance respiratoire et les troubles de conduction et d'arythmie cardiaque manifeste sont rapportées chez des patients sévèrement affectés par la maladie (Laforet et al., 1998; Wohlgemuth et al.,

2004). En revanche, les douleurs et la fatigue sont des symptômes très fréquemment décrits par les patients.

c. Importance du diagnostic de la FSHD

Avant 1990, le diagnostic de la FSHD était posé sur la base des données de l'examen clinique, lesquelles sont accompagnées d'examens complémentaires tels que le dosage d'enzymes musculaires, l'électromyographie (EMG) et la biopsie musculaire, pour confirmer le diagnostic de myopathie FSHD. Si le diagnostic était en général plus ou moins aisé dans des cas de diagnostic simple pour les spécialistes des maladies neuromusculaires, il s'avère inexact dans des cas plus complexes. Mais grâce à l'avènement en 1990 du test génétique, les chercheurs ont apporté une aide considérable dans la précision du diagnostic, y compris dans les cas où les critères cliniques sont absents, contournant ainsi la nécessité d'une biopsie musculaire dans la plupart des cas. Il consiste à rechercher l'anomalie spécifique de la FSHD sur le chromosome 4q à partir d'un prélèvement sanguin. Mais dans près de 20 à 40% des cas, le diagnostic conduit encore à des résultats peu concluants.

De nouveaux outils et techniques ont été récemment mis au point pour améliorer le diagnostic de la FSHD. La technique du peignage moléculaire d'ADN améliore considérablement l'analyse structurale et fonctionnelle des molécules d'ADN permettant ainsi de distinguer les différents allèles 4qA, 4qB, 10q et leurs tailles par FISH sur fibres de l'ADN étirées sur des lamelles de verre (Nguyen et al., 2011). Il est possible aussi d'avoir recours à l'imagerie musculaire pour évoquer le diagnostic de la FSHD en mettant en évidence une atteinte en patchwork des différents groupes musculaires.

2. Physiopathologie

a. Remaniement du chromosome 4

La dystrophie facio-scapulo-humérale est une maladie génétique qui se transmet sur un mode autosomique dominant. Dans une très grande majorité des cas (95%), la forme classique FSHD est due à une anomalie génétique située sur le chromosome 4: FSHD 1 (Wijmenga et al., 1990a). Mais les progrès de la science dans les caractéristiques génétiques et épigénétiques ont permis d'identifier dans quelques rares cas un type de FSHD caractérisé par un phénotype clinique identique que la FSHD 1, mais non associé génétiquement au chromosome 4, bien qu'aucun locus génétique impliqué n'ait été identifié : FSHD 2 (Bakker et al., 1995; Gilbert et al., 1993; Sacconi and Desnuelle, 2013; Wijmenga et al., 1990b).

Le défaut génétique de la FSHD a été identifié pour la première fois en 1990 à l'extrémité distale du bras long (q) du chromosome 4 par analyse de liaison sur le locus 4p35 (figure 19a). Il est lié à une large séquence de 3,3 kb répétée en tandem dans une région subtélomérique dénommée D4Z4 (Hewitt et al., 1994; van Deutekom et al., 1993).

L'analyse génétique montre que dans la population générale, le nombre de répétitions est hautement polymorphe et varie entre 11 – 150 motifs tandis que chez plus de 95% des patients FSHD, le nombre de répétitions est inférieur à 11 motifs (figure 19b) (Richards et al., 2012; van der Maarel and Frants, 2005; Wijmenga et al., 1993). Toutefois, la présence d'au moins une répétition D4Z4 est nécessaire pour déclencher la maladie puisque l'analyse génétique montre que les parents porteurs d'une délétion 4qter n'ont pas de symptômes FSHD (Tupler et al. 1996). Cependant, les délétions proximales touchant D4Z4 et une région proximale de 40 à 60 kb incluant le locus p13E11 ont été décrites dans 3% des cas (Deak et al., 2007; Lemmers et al., 2003).

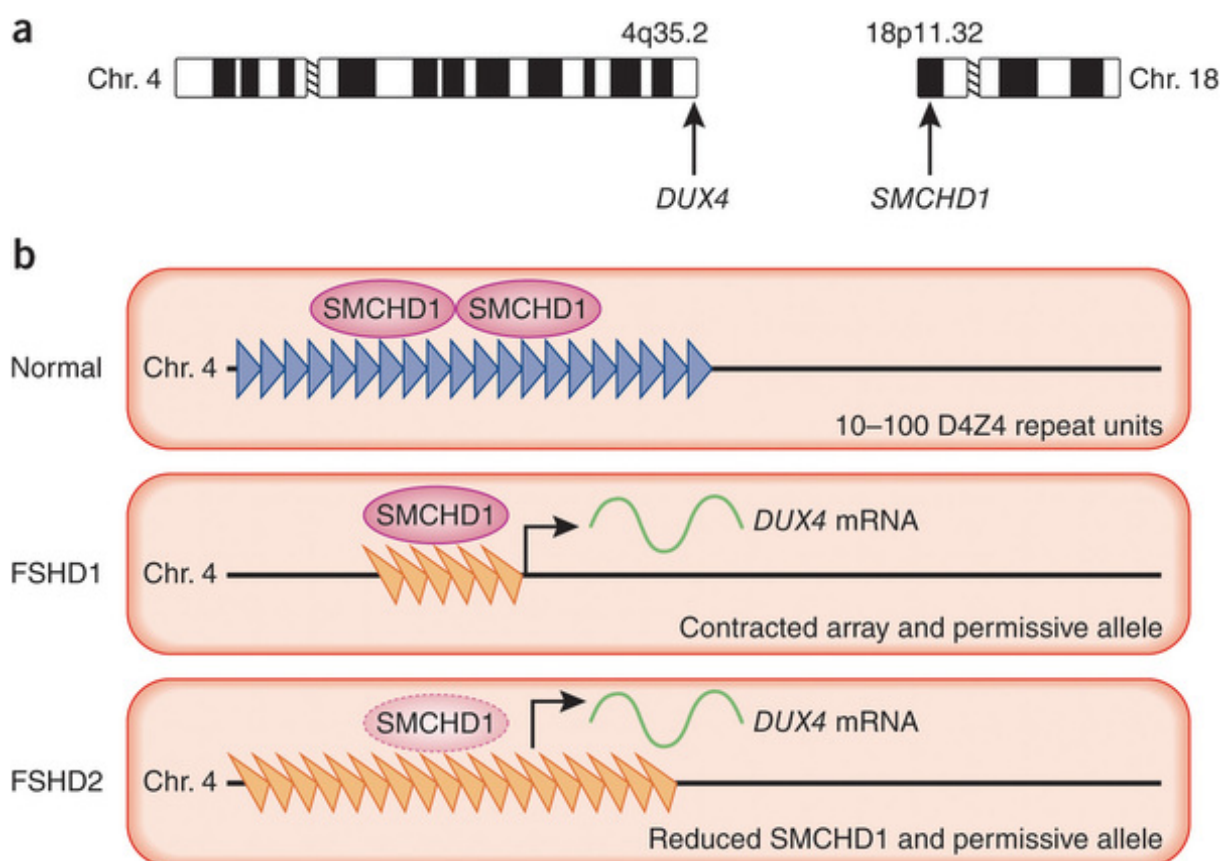


Figure 19 : Description de la région subtélomérique du chromosome 4q35 chez les sujets normaux et FSHD. Les sujets normaux ont entre 11 et 100 répétitions D4Z4 tandis que les sujets FSHD 1 ont moins de 11 répétitions. D'après (Lupski, 2012)

Il existe une relation inverse entre le nombre résiduel de répétitions et l'âge de déclenchement

et la sévérité de la maladie. Plus le nombre de répétitions est faible et plus l'âge de début est précoce et plus la maladie est sévère (Lunt et al., 1995; Tawil et al., 1996). Néanmoins, les individus affectés au sein d'une même famille et porteurs d'une même taille de délétion peuvent présenter un large spectre de sévérité de la maladie, indiquant que la délétion n'est pas le seul facteur déterminant de la sévérité de la FSHD.

Cependant, les répétitions D4Z4 ne se retrouvent pas seulement présentes à l'extrémité du bras long du chromosome 4q35. Un certain nombre de séquences homologues à D4Z4 sont identifiées sur plusieurs loci d'hétérochromatine du génome humain, liés aux bras courts des chromosomes acrocentriques (13p12, 14p12, 15p12, 21p12, 22p12) et ceux de la région péracentromérique du chromosome 1q12 tandis qu'une presque identique et égale répétition polymorphique (~99%) d'unités D4Z4, identique à la région 4q35 réside dans la région subtélomérique du chromosome 10q26 (Hewitt et al., 1994; Lyle et al., 1995; Wijmenga et al., 1990a). Bien que les régions 4qter et 10qter présentent des répétitions identiques, la FSHD est spécifique du chromosome 4 puisqu'au cas de FSHD lié au chromosome 10 n'est pathologique. De plus, deux variantes alléliques spécifiques, localisées sur le chromosome 4 par rapport au locus répété D4Z4, ont été identifiées : 4qA et 4qB. Seul l'allèle 4qA, a été décrit comme pathogène (van der Maarel et al., 2007; van Geel et al., 2002).

b. Mécanismes moléculaires dans la FSHD

Bien que le défaut génétique associé à la FSHD ait été identifié, les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la FSHD restent encore très largement inconnus. Parce que l'expression de la FSHD nécessite au moins la présence d'une répétition D4Z4, les recherches se sont focalisées sur la recherche d'un ou plusieurs gènes associés à la région D4Z4 ou des séquences régulatrices situées au locus 4q35 qui sont directement impliquées dans la pathologie. Malgré les efforts de recherche, aucune conclusion évidente n'a pu être faite. La contraction du nombre de répétitions D4Z4 ne semble pas perturber la structure d'un gène spécifique malade (Richards et al., 2012; van der Maarel et al., 2007). La FSHD serait liée, notamment à un remodelage de la conformation de la chromatine au locus 4q35. Ces changements de conformation conduisent à une régulation inappropriée d'un ou plusieurs gènes à l'intérieur ou à proximité de la région D4Z4 (Clapp et al., 2007; van der Maarel and Frants, 2005). De nombreuses pistes ont été explorées en vain ces dernières années pour mieux comprendre la physiopathologie de la maladie (Gabellini et al., 2002; Petrov et al., 2008; Van Vaerenbergh et al., 2003).

- Identification de gènes candidats: Des modèles ont été proposés pour tenter d'expliquer le processus par lequel les délétions en D4Z4 pourraient influencer ou activer la transcription des gènes dans la région. De multiples analyses d'expression de gènes cibles, pressentis pour être impliqués dans le phénotype de la FSHD ont été proposées en raison de leur localisation et/ou de leur fonction. Au moins, trois gènes situés à proximité de la région D4Z4 ont été identifiés, FRG1 (FSHD-related gene 1), FRG2 (FSHD-related gene 2) et ANT1 (Adenine nucleotide translocator 1). Les premières études indiquaient que le niveau de surexpression de ces gènes dans le muscle des patients FSHD était dépendant de leur proximité de la région D4Z4, alors qu'ils ne le sont pas ou peu dans le muscle de sujets sains (Gabellini et al., 2002). Cette surexpression est d'autant plus importante que le nombre de répétitions D4Z4 présenté par le patient est faible. Gabellini et al. (2006) ont aussi montré que des souris génétiquement modifiées, surexprimant le gène FRG1, développent un phénotype musculaire dystrophique semblable à la FSHD (Gabellini et al., 2006). Malgré cette surexpression des gènes cibles, FRG1 (FSHD-related gene 1), FRG2 (FSHD-related gene 2), ANT1 (Adenine nucleotide translocator 1) dans les muscles de patients FSHD et leurs implications dans plusieurs maladies neuromusculaires, les résultats restent très controversés. Récemment, plusieurs études, ont présenté une surexpression ou une sous expression de ces gènes à la fois dans les muscles FSHD et sains (Gabellini et al., 2002; van Deutekom et al., 1996). Les rôles exacts joués par ces gènes dans la physiopathologie de la maladie restent encore largement inconnus (Dixit et al., 2007; Liu et al., 2010).

- Rôle du gène DUX4 : Le plus encourageant des résultats est probablement à l'heure actuelle, l'identification d'un gène putatif au sein de chaque unité D4Z4, dénommé DUX4, à l'intérieur duquel un promoteur fonctionnel a été identifié (Bickmore and van der Maarel, 2003; Lyle et al., 1995; Tassin et al., 2012). Le gène DUX4 est un « open reading frame » (ORF) dont le rôle a longtemps été controversé. En dépit des nombreux efforts scientifiques, sa fonction réelle n'a encore jamais été clairement établie, mais de récentes avancées ont montré l'important rôle de transcripts et d'ARN provenant du DUX4 dans le développement de la FSHD (Snider et al., 2009).

Un mécanisme d'expression du DUX4 a été proposé à partir de son ARN_m qui est présent en très faible quantité dans le muscle FSHD. L'ARN_m du DUX4 identifié dans les cellules musculaires en culture de patients FSHD, est transcrit à partir de la dernière unité D4Z4. Cette transcription utilise le site unique d'initiation 3'UTR du gène qui s'étend à un signal de polyadénylation (poly-A) présent dans la région pLAM du chromosome 4, sur l'allèle 4qA

uniquement chez les sujets FSHD (Dixit et al., 2007; Kowaljow et al., 2007; Tassin et al., 2012). Ce signal est démontré comme jouant un rôle de stabilisateur de l'ARNm du DUX4 dans plusieurs allèles permissifs alors que l'absence de ce signal entraîne une déficience du DUX4 dans les allèles non permissifs. En conséquence, l'expression d'un transcrit entier de DUX4 stable nécessite une copie D4Z4 adjacente à un signal de poly-A permissive (Lemmers et al., 2010).

Récemment, les études de transfection menées par Dixit et al ont mis en évidence la protéine DUX4 comme un facteur de transcription essentiel associé à une surexpression de PITX1. Ce dernier facteur de transcription est connu pour contrôler le développement des membres postérieurs et jouer un rôle important dans la régulation de l'asymétrie droite/gauche souvent caractéristique dans la FSHD (Dixit et al., 2007). In vivo, en culture de cellules, la surexpression de DUX4 résulte d'une augmentation excessive de la toxicité des cellules en culture induite par une apoptose cellulaire (Bosnakovski et al., 2008; Clapp et al., 2007; Kowaljow et al., 2007). Cette dérégulation se fait sans association directe des gènes candidats (FRG1, ANT1, FRG2). De plus, seul le DUX4 est impliqué dans la réduction du niveau d'expression de *MyoD* et de ses gènes cibles conduisant à un défaut de différenciation musculaire et enfin le DUX4 induit une pathologie semblable à la FSHD dans les myoblastes C2C12. D'après certaines études récentes, une dérégulation du DUX4 au cours du développement a été mise en évidence dans les biopsies musculaires de patients FSHD alors même que la dérégulation est absente chez les sujets contrôles. Ces études donnent une indication claire et renforcent l'idée que l'ARNm DUX4 et/ou le DUX4 influencent directement la pathogenèse de la FSHD (Lemmers et al., 2010; Snider et al., 2010). Cette aberrante expression du DUX4 dans la FSHD induit une inhibition des voies de régulation myogénique. Dans la même étude sur les myoblastes C2C12, Bosnakovski et al ont démontré que plusieurs gènes ont été mal régulés 4 heures de temps après l'induction de l'expression du DUX4 dans les cellules suggérant que le DUX4 a une action directe sur plusieurs gènes à la fois. Ce qui justifie que le DUX4 induit une large cascade de dérégulation de plusieurs gènes myogéniques. Cependant, la relation qui lie le DUX4 et ces différents gènes reste encore inconnue (Bosnakovski et al., 2008; Dixit et al., 2007).

3. Répercussions fonctionnelles et thérapeutiques

a. La Fatigue, un symptôme prépondérant de la FSHD

La fatigue musculaire associée à la faiblesse musculaire représente l'un des symptômes les plus fréquents et les plus invalidants dans les MNMs et principalement dans les dystrophies comme la FSHD (Kalkman et al., 2008). Plusieurs études cliniques rapportent la fatigue sévère, comme une des plaintes majeures, les plus rédhibitoires recensées chez des patients atteints de MNMs, y compris dans les myopathies où la progression semble relativement modérée (Fisk et al., 1994; Kalkman et al., 2008; Krupp et al., 1989; Schwartz et al., 1996; van der Werf et al., 2003). Plus de 60% des patients FSHD rapportent régulièrement des signes de cette fatigue sévère. De plus, il a été démontré que la sévérité de la fatigue est associée à la sévérité des atteintes fonctionnelles (Kalkman et al., 2005; van der Kooi et al., 2007). Dans de récentes études, il a été démontré que les difficultés et limitations fonctionnelles aussi bien que la dégradation de la santé mentale et générale dans la vie quotidienne des patients évoluent proportionnellement avec le niveau de la fatigue (Kalkman et al., 2008; Voet et al., 2010a).

Cependant, très peu d'études ont étudié l'origine de cette fatigue quotidienne ressentie. En effet, la fatigue physiologique comprend deux dimensions: une fatigue centrale et une fatigue périphérique. Selon les travaux de Kalkman et al., la fatigue ressentie par les patients FSHD serait plus corrélée à la fatigue centrale (Kalkman et al. 2008) tandis que Schillings ML et son équipe ont rapporté une diminution de l'activation centrale faiblement corrélée à la fatigue quotidienne ressentie par les sujets FSHD (Schillings et al., 2007).

B. Suivi et propositions thérapeutiques

L'atteinte musculaire est l'atteinte majeure observée dans la FSHD. Cependant, il existe des difficultés d'autres fonctions de l'organisme associées à la fonction musculaire telles que les difficultés orthopédiques, auditives et cardiaques pour ne citer que celles – là. En conséquence, la prise en charge de la FSHD doit être pluridisciplinaire en vue d'aider le patient à avoir une meilleure qualité de vie. Par exemple, les cardiopathies font fréquemment partie des manifestations associées aux maladies musculaires et particulièrement aux dystrophies musculaires. Cependant, la FSHD n'est pas reconnue comme une cause majeure à l'origine de dysfonctionnements cardiaques (de Visser et al., 1992). Les cas de cardiopathies sévères sont très rares (Hermans et al., 2010; Stevenson et al., 1990) et les

dysfonctionnements cardiaques les plus fréquents sont les tachycardies particulièrement supra ventriculaires et des anomalies mineures d'électrocardiogramme (ECG). Quelques rares études rapportent des atteintes mineures très variables souvent relatives au défaut de conduction et à l'arythmie auriculaire (Bushby et al., 2003; Laforet et al., 1998; Trevisan et al., 2006). De même, de rares études rapportent une atteinte respiratoire pour environ 1% des patients FSHD. Ce sont surtout les patients les plus atteints nécessitant notamment l'usage du fauteuil roulant ou ceux développant une cyphoscoliose marquée (Wohlgemuth et al., 2004). Dans ces situations, le processus dystrophique qui sous-tend ces formes de FSHD, atteint davantage les muscles expiratoires que les muscles inspiratoires et provoque une faiblesse de la fonction respiratoire (Stubgen and Schultz, 2009). Des signes et des symptômes d'hypoventilation nocturne ou de baisse de la capacité vitale de près de 50% des valeurs prédites peuvent être ainsi rencontrés (Tawil et al., 2010).

Les nombreuses études moléculaires réalisées à ce jour dans le but de mieux comprendre la physiopathologie de la FSHD, ne sont pas encore concluantes et aucun essai clinique ne semble encore aboutir à de nouvelles thérapies capables d'éradiquer les manifestations de la pathologie musculaire (Richards et al., 2012; Tawil, 2008; van der Maarel et al., 2007). Au regard de cette incertitude, il apparaît clair que la FSHD reste encore incurable malgré les nombreux efforts et avancées scientifiques. Si aucune combinaison des thérapies actuelles n'est capable d'enrayer les signes cliniques de la maladie, il semble important de ralentir sa progression.

Des interventions non pharmacologiques sont proposées pour améliorer la fonction physique et prévenir les complications connues de la maladie (Tawil, 2008). Outre les orthèses cheville-pied utiles pour lutter contre les chutes fréquentes, des solutions chirurgicales sont proposées pour atténuer l'impact de la maladie. L'une des conséquences majeures de la maladie étant la limitation fonctionnelle des membres supérieurs du sujet, du fait de son incapacité à lever ses bras, une solution chirurgicale est préconisée. Cependant, cette opération n'est pas absolue, mais limitée aux sujets considérés comme ayant une FSHD stable ou de progression lente et elle peut s'avérer compliquée (Bunch and Siegel, 1993). De plus, la proposition est faite uniquement aux patients ayant préservé une force musculaire raisonnable des bras (Tawil, 2008).

De toutes ces solutions proposées, aucune ne permet véritablement d'améliorer, ni la masse musculaire, ni la force musculaire, ni la fonction musculaire. Or l'activité physique est connue pour améliorer la fonction musculaire. Les effets de l'entraînement physique sur les patients FSHD ont été discutés ces dernières années (Feasson et al., 2010b; Fellmann, 1969; van der

Kooi et al., 2005; van der Kooi et al., 2004; Voet et al., 2010a; Voet et al., 2010b, 2013). Il convient de retenir qu'à défaut d'un traitement curatif, la thérapie par l'exercice physique semble ne plus être contre - indiquée malgré la susceptibilité aux dommages musculaires des muscles de patients FSHD.

2^{ème} PARTIE - CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES

INTERÊTS ET OBJECTIFS SCIENTIFIQUES

A la lumière de cette revue de la littérature, il apparaît clairement que la pratique de l'exercice physique (EP) engendre des effets bénéfiques indéniables sur la santé physique, la santé cardio-respiratoire, le gain de force et la qualité de vie. Ces adaptations de l'organisme à l'EP, sont observées dans la population générale, aussi bien que dans le cadre clinique. Malgré une fragilité musculaire évidente chez les patients atteints de maladies neuromusculaires et particulièrement dystrophiques, nous avons montré que proscrire l'EP dans le cadre des maladies musculaires n'est plus scientifiquement recommandé au regard des conclusions de quelques travaux récents. Si l'entraînement aérobic a incontestablement montré son efficacité dans l'amélioration de l'aptitude cardio-vasculaire, évaluée par exemple par une augmentation de la consommation maximale d'oxygène VO_2max , les effets bénéfiques de l'entraînement en force sont moins clairs et méritent des investigations plus poussées. Au vu de la littérature, il semble que l'entraînement composite combinant exercices aérobies et de force soit probablement le plus efficace en termes de gains fonctionnels et pourrait aider le patient à rompre avec la monotonie ressentie lors d'une même séance. Dans cette perspective, il nous paraît important de proposer une thérapie par l'exercice basée sur un entraînement mixte combinant exercices aérobies et de force.

Il est difficile de justifier de l'effet réel de ces entraînements à plus long terme car la plupart des programmes d'entraînement ont été réalisés sur trois mois au maximum. L'analyse des rapports sur les effets de l'exercice suggère qu'un programme d'exercices modérés et contrôlés peut être toléré et bénéfique pour les myopathes. Ces résultats sont donc prometteurs, mais restent encore insuffisants. De ce fait, il nous semble important de proposer d'une part un entraînement réalisé à domicile et encadré par un spécialiste d'activités physiques adaptées et d'autre part sur une durée supérieure à 3 mois, donc plus longue que la moyenne des études existantes.

Néanmoins, la pratique de l'exercice physique dans les pathologies musculaires doit être mise en place suivant des modalités qui tiennent compte des caractéristiques propres et de l'étiologie de chaque maladie neuromusculaire. Il apparaît donc important dans la mise en oeuvre de cette thérapie par l'exercice, de ne pas combiner plusieurs types de pathologies, mais d'en cibler un type précis. C'est la raison pour laquelle, nous avons porté notre choix sur un type de myopathie très précis : la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD).

De plus, nous avons souligné le fait que la littérature ne rapporte aucune donnée relative à l'impact de l'exercice physique durable sur la qualité du muscle, notamment sur le processus régénératif via l'étude des cellules satellites dans le cadre des maladies musculaires.

En prélude à ce travail sur l'impact de l'exercice sur la qualité d'un muscle malade et dans le souci d'une maîtrise préalable des connaissances histologiques et techniques liées à l'étude de la régénération musculaire dans le cadre des maladie musculaires, une partie de nos travaux de thèse a été consacrée à l'étude du processus régénératif du muscle via l'évaluation du pool de cellules satellites dans leurs différents états. L'étude de ce processus a été mise en oeuvre dans les maladies musculaires. L'objectif visé à travers cette première étude a été **d'évaluer et de comparer le potentiel régénératif dans deux modèles de myopathies qui s'opposent par leur physiopathologie et leur évolution** : la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et les myopathies inflammatoires subaiguës : polymyosites et dermatomyosites (PM/DM) **(Etude I)**.

Au cours de cette revue de littérature, nous avons aussi montré que, la fatigue musculaire est associée à la faiblesse musculaire dans les différents pathologies musculaires et elle représente, l'un des symptômes les plus courants et les plus fréquents qui limitent les patients, dans les actes quotidiens de la vie (Kalkman et al., 2008). La littérature montre que la pratique d'une activité physique régulière, conduit à des adaptations multiples qui contribuent à une diminution de la fatigue ressentie. Or, les mécanismes liés à la fatigue neuromusculaire peuvent être d'ordre central, i.e. relatifs à l'activation des unités motrices, ou d'ordre périphérique, i.e relatifs à l'altération des éléments contractiles du muscle. Il s'avère donc important d'une part, de comprendre les mécanismes liés à la fatigue dans le cadre des pathologies musculaires et d'autre part d'évaluer l'impact d'une pratique de l'activité physique régulière sur les capacités physiques et en particulier sur la résistance à la fatigue chez le patient, en tenant compte de chacun de ces mécanismes. Si l'électrostimulation reste l'outil de référence pour l'exploration de la fatigue neuromusculaire, il semble présenter des limites dans la tolérance surtout dans le cadre des pathologies musculaires caractérisées par une atrophie musculaire. En raison d'un manque d'outils standardisés et adaptés pour l'évaluation de la fatigue en clinique, nous utiliserons la stimulation magnétique, technique déjà validée chez les sujets sains (Bachasson et al., 2013a) via la stimulation magnétique du nerf fémoral, et un protocole de fatigue appelé : "QIF test" (Quadriceps intermittent fatigue). Ce protocole semble être bien toléré, ce qui le prédispose à être un outil adéquat aux explorations chez les patients.

Ainsi, la seconde étude rapporte notre contribution à l'adaptation et la validation de cet outil dans le contexte de la FSHD. L'objectif a été **d'étudier la faisabilité et la reproductibilité d'un test d'évaluation de la fonction neuromusculaire du quadriceps en utilisant la stimulation magnétique**. Ce travail méthodologique a permis dans un premier temps, de valider cet outil d'évaluation de la fonction et de la fatigue neuromusculaires dans deux populations porteuses d'atteintes neuromusculaires (**Etude II**). Et dans un second temps, cette validation a permis l'utilisation de l'outil pour apprécier les variations de la résistance à la fatigue de patients porteurs de la FSHD engagés dans un programme d'entraînement.

Par ailleurs, outre l'absence quasi systématique d'évaluation de la qualité de vie lors des études associant pathologies musculaires et exercice physique, il nous a paru important de proposer une étude intégrative portant sur la thérapie par l'exercice chez le patient atteint de la FSHD. Le programme d'activité physique envisagé est d'intensité modeste, mais suffisante pour permettre une amélioration fonctionnelle à long terme. Notre but est **d'étudier les effets d'un programme mixte d'exercices physiques sur les aspects fonctionnels, tissulaires et de qualité de vie à long terme chez ces patients (Etude III)**.

**ETUDE I: EVALUATION DU CONTENU EN CELLULES
SATELLITE RAPPORTE AU TYPE DE FIBRE DANS DEUX
MODELES DE MALADIES MUSCULAIRES.**

1. Introduction et objectifs

Dans la partie 1 de notre manuscrit, nous avons montré le rôle essentiel des SC dans la régénération et la réparation des fibres musculaires dans la population saine. Nous avons aussi montré que la diminution du contenu en SC est liée à la diminution de la masse dans le muscle âgé, dénervé et sédentaire. De plus, il a été rapporté qu'il existe une diminution du contenu en SC fibres-dépendante dans le muscle âgé. Cette meilleure connaissance des mécanismes cellulaires de la régénération musculaire chez le sujet âgé revêt une importance clinique susceptible de guider de futurs essais thérapeutiques notamment en thérapies par l'exercice physique. A l'inverse, malgré l'atrophie observée chez les myopathes, des données de la littérature rapportent un contenu en SC plus important chez ces sujets comparé aux sujets sains, (Ishimoto et al., 1983; Maier and Bornemann, 1999; Wakayama, 1976). Mais, peu de connaissances sont rapportées dans la compréhension des mécanismes cellulaires liés à l'atrophie. De plus, aucune donnée de la littérature ne renseigne sur la distribution des SC entre types de fibres chez les sujets myopathes.

La présente étude vise à mieux comprendre le comportement des SC dans le cadre des myopathies. Nous avons évalué le contenu en SC associé à chaque type de fibres, dans le contexte de deux modèles de maladies musculaires s'opposant par leurs physiopathologies, leur âge d'apparition clinique et leur durée d'évolution : la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et des polymyosites-dermatomyosites (PM/DM). D'une part, une maladie dystrophique, ancienne mais survenant dans l'enfance : la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et d'autre part un groupe de maladies inflammatoires d'installation très récentes chez des sujets adultes matures : les myosites chroniques, polymyosite et dermatomyosite (PM/DM).

2. Méthodologie

Populations : Neuf patients DMD et PM/DM (âges moyens respectifs : 13 ± 2 ans et 52 ± 12 ans) ont été recrutés. Les patients DMD ont perdu la fonction de la marche depuis l'âge moyen de 9 ans. Ils étaient au stade d'une intervention chirurgicale de la scoliose avec des dysfonctionnements cardiaques et respiratoires (volume courant : $72 \pm 8\%$). À l'inverse, les patients PM/DM avaient un mode de vie et des activités quotidiennes normales en dépit des plaintes de fatigue et de douleurs musculaires depuis quelques semaines au plus. Les données de cinq sujets sains (âge : 26 ± 5 ans) issues d'étude réalisée par notre équipe (Kadi et al., 2006) ont été utilisées comme données de référence.

Matériels et Méthodes : Les biopsies musculaires des sujets DMD proviennent du muscle paravertébral lors d'une orthrodèse, qui représente l'un des derniers groupes musculaires fonctionnels tandis que les PM/DM, ont été prélevées dans le *vastus lateralis*. Les biopsies des sujets contrôles proviennent du *vastus lateralis*. Des analyses histologiques de routine (basée sur la coloration HES), immunohistochimiques et en IF (basées sur les anticorps Pax7, A4-840, N2-261, laminine et CD56) ont été réalisées pour évaluer respectivement la structure générale du tissu musculaire, la distribution des SC et l'identification des fibres régénérées dans les muscles (*cf* annexe 7). L'anticorps Ki67 a été utilisé pour évaluer l'activation des SC.

3. Résultats - Discussion

Résultats : Le contenu en SC est plus élevé dans le muscle malade (DMD et PM/DM) comparé aux muscles contrôles, avec une augmentation plus importante chez les DMD. Une réduction importante du pourcentage des fibres de type II ($5 \pm 4\%$) et une distribution des SC type de fibre-dépendant ont été observées uniquement dans les muscles de patients DMD. Les biopsies des patients DMD montrent la présence de petites fibres régénératives (47% de l'ensemble des fibres) au contenu élevé en SC ($0.09 \pm 0.09\%$) et de cellules situées hors de la matrice cellulaire marquées Pax7⁺ (~ 8% de l'ensemble des cellules marquées Pax7⁺). Une proportion plus importante de SC activées a été trouvée chez les PM/DM ($2.8 \pm 2\%$) comparés aux DMD ($0.4 \pm 0.4\%$). Et enfin, des modifications structurales (présence de fibrose, noyaux à l'intérieur des fibres) plus importantes et plus étendues ont été observées chez les DMD, alors qu'elles sont limitées chez les PM/DM.

Discussion : Nos résultats sur l'augmentation du contenu en SC dans deux modèles de maladies confirment les conclusions de précédentes études. L'importante augmentation du contenu en SC (Pax7⁺SC) chez les patients DMD, suggère une différence dans le processus régénératif qui semble lié à l'ampleur des modifications structurales et à la sévérité de l'atteinte entre un modèle irréversible de dégénérescence musculaire, génétique, intrinsèque apparaissant très tôt (DMD) et un autre modèle de dégénérescence musculaire subaiguë, extrinsèque, récemment acquise (PM/DM). La distribution type de fibre-dépendante des SC dans les muscles DMD (contenu en SC plus élevé dans le type I) peut être considérée comme une stratégie adaptative qui a pour but de préserver l'intégrité du muscle et suggère que dans les muscles dystrophiques, les fibres de type I ont une meilleure capacité à résister aux stress imposés par la maladie et aux contraintes mécaniques extérieures comme dans le cas des personnes âgées. De plus, en dépit de l'atrophie et de la fibrose importantes, la présence

particulière d'éléments cellulaires dans les muscles de patients DMD (contenu élevé en SC, nombreuses fibres régénératives avec des SC, présence de SC activées) plaide en faveur de l'existence d'un processus de régénération encore actif prononcé chez les patients DMD.

4. Conclusion

Malgré une durée d'évolution de la maladie plus ancienne et un muscle plus sévèrement atteint chez les patients DMD, le processus régénératif via la production de nouvelles SC reste encore très présent. Par conséquent, la perte de fibres musculaires, la présence d'une importante fibrose et l'inefficacité de la régénération complète pourraient davantage s'expliquer par une défaillance dans les facteurs clés régulant la différenciation des fibres, comme cela a pu être illustré dans de récents travaux (Kottlors and Kirschner, 2010).

Article 1 - Fibre type-specific satellite cell content in two models of muscle disease.

Bankolé LC, Féasson L, Ponsot E, Kadi F. *Histopathology*. 2013 Dec; 63(6): 826-32.

FIBRE TYPE-SPECIFIC SATELLITE CELL CONTENT IN TWO MODELS OF MUSCLE DISEASE

Landry-Cyrille BANKOLE,^{1,2,3} Léonard FEASSON,^{2,3} Elodie PONSOT¹ et Fawzi KADI¹

¹Muscle and Exercise Physiology Research Group (MEP-RG), School of Health and Medical Sciences, Orebro University, Orebro, Sweden,

²Laboratory of Exercise Physiology (LPE EA 4338), University of Lyon, Saint- Etienne, France, et

³Unit of Myology, University Hospital of Saint-Etienne, Saint - Etienne, France

Corresponding author:

Pr Fawzi KADI

Muscle and Exercise Physiology Research Group (MEP-RG), School of Health and Medical Sciences, Orebro University,
701 82 Orebro, Sweden,



Fibre type-specific satellite cell content in two models of muscle disease

Landry-Cyrille Bankolé,^{1,2,3} Léonard Feasson,^{2,3} Elodie Ponsot¹ & Fawzi Kadi¹

¹Muscle and Exercise Physiology Research Group (MEP-RG), School of Health and Medical Sciences, Örebro University, Örebro, Sweden, ²Laboratory of Exercise Physiology (LPE EA 4338), University of Lyon, Saint-Étienne, France, and ³Unit of Myology, University Hospital of Saint-Etienne, Saint-Étienne, France

Date of submission 15 April 2013
Accepted for publication 16 July 2013
Published online Article Accepted 19 July 2013

Bankolé L C, Feasson L, Ponsot E & Kadi F
(2013) *Histopathology*

Fibre type-specific satellite cell content in two models of muscle disease

Aims: Muscle satellite cells (SCs) are responsible for the regenerative events following muscle fibre injury. This study aimed to improve our understanding of SC behaviour in two models of muscle disorder with different pathological mechanisms and onset of disease.

Methods and results: Pax7⁺SC content was assessed in types I and II fibres of patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD; $n = 9$; age 13 ± 2 years), polymyositis/dermatomyositis (PM/DM; $n = 9$; age 52 ± 12 years) and in controls ($n = 5$; age 26 ± 5 years). Pax7⁺SCs number in type I and II fibres was higher ($P < 0.05$) in DMD and in PM/DM compared to controls. Type I fibres were associated with a higher number of Pax7⁺SCs compared to type

II fibres only in DMD; Pax7⁺SCs number in type I fibres was about threefold higher in DMD compared to PM/DM ($P < 0.05$). In DMD, Pax7⁺SC content in small regenerating fibres (0.09 ± 0.09 SCs/fibre) was similar to that in fibres from healthy skeletal muscle. The proportion of activated SCs (Ki-67⁺SCs) was fivefold lower in DMD ($0.4 \pm 0.4\%$) compared to PM/DM ($2.8 \pm 2\%$). Pax7⁺ cells located outside the basal lamina were observed in DMD muscles only.

Conclusion: The capacity to generate new SCs is increased even in severely impaired muscles and a fibre type-specific enhancement of SC occurs in type I muscle fibres in DMD.

Keywords: Duchenne muscular dystrophy, Pax7, polymyositis and dermatomyositis, regeneration

Introduction

Satellite cells (SCs) are undifferentiated myogenic precursors, located between the sarcolemma and the basal lamina of skeletal muscle fibres.¹ They are responsible for regenerative events following muscle fibre injury caused by physiological or pathological events.^{2,3} Following injury, resting SCs become activated, proliferate and generate new muscle tissue.^{2,4,5} Over the years, several studies have investigated the number and behaviour of SCs in dif-

ferent muscles and under various physiological conditions. In normal healthy human skeletal muscle, SCs represent 2–6% of the total myonuclear number^{6–8} and an average of 4–10% of the SC content can be activated under normal physiological conditions.⁹ Whereas no significant differences in SC content between slow (type I) and fast (type II) muscle fibres have been reported in young adults,^{10,11} a decline in SC numbers occurs in elderly people.^{12–15} Interestingly, this age-related reduction in SCs can occur preferentially in type II fibres of some muscles, but not in all.^{16,17}

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an X-linked genetic progressive myopathy resulting in the complete loss of the structural subsarcolemal protein,

Address for correspondence: F Kadi, School of Health and Medical Sciences, Örebro University, 70182, Örebro, Sweden. e-mail: fawzi.kadi@oru.se

dystrophin,^{18,19} which leads ultimately to chronic muscle degeneration. Therefore, DMD is considered as a genetic model of chronic intrinsic irreversible cellular degeneration occurring from early childhood and leading to irreversible necrosis of muscle fibres. In contrast, dermatomyositis (DM) and polymyositis (PM) are autoimmune disorders that generally appear in adulthood and are therefore considered as acquired models of acute or subacute muscle degeneration with an almost reversible regenerative process under treatment.²⁰ Knowledge of muscle regeneration in diseased muscles has an important clinical value. In this respect, several investigations have reported elevated SC content in diseased muscles^{21–23} and the highest SC content has been found in DMD.^{23,24} Nevertheless, information on the fibre type-specific SC content in diseased muscles is lacking.

In order to improve our understanding of SC biology in the context of two models of muscle diseases with different pathological mechanisms and onset of disease, we have assessed SC content in types I and II muscle fibres of patients with DMD and PM/DM.

Materials and methods

SUBJECTS AND MUSCLE SAMPLES

Eighteen patients, nine with DMD (age $\sim 13 \pm 2$ years) and nine with chronic myositis (age $\sim 52 \pm 12$ years) were included. Clinically, all DMD patients were unable to walk. They were at the stage of scoliosis surgery and experienced cardiac and respiratory failure (loss of walking ability $\sim 9 \pm 1$ years; tidal volume $\sim 72 \pm 8\%$; SaO₂ $\sim 97.3 \pm 1\%$). In contrast, all PM/DM patients had normal daily activities, despite complaints of myalgia and muscle fatigue. In order to put the data into a broader context, SC content from five healthy control subjects (age $\sim 26 \pm 5$ years) was used as the reference range.¹⁰ Written consent in accordance with a policy statement regarding the use of human muscle samples was obtained from all patients. All experimental protocols and biopsy procedures were approved by the regional ethics committee (2010-08-23, no. DC-2010-1108, CPP Sud Est 1; Saint-Etienne, France) and the protocols complied with the standards set by the Declaration of Helsinki.

Muscle biopsies were obtained from paravertebral muscle during spinal arthrodesis in DMD patients. Paravertebral muscles belong to the last remaining functional muscle groups in DMD patients. Muscle biopsies from PM/DM were obtained from vastus lateralis during initial diagnosis, 2–6 weeks from the

onset of symptoms. Muscle biopsies from controls were obtained from vastus lateralis. Muscle samples were frozen in chilled isopentane and stored at -70°C until analysis.

HISTOLOGY AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY

Serial 5- μm thick muscle cross-sections were cut at -22°C using a cryostat (Leica CM 1850; Leica, Wetzlar, Germany), mounted on glass slides and air-dried at room temperature.

Routine histological staining using haematoxylin and eosin (H&E) was performed for the study of the overall structure of the tissue. For evaluation of the fibre type-specific Pax7⁺SC content, a two-step procedure based on the use of two serial cross-sections was used. The first section was first labelled with a monoclonal antibody (mAb) against Pax7 (Pax7; Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa City, IA, USA) followed by a second incubation in a mixture of mAbs against slow myosin (A4.840; Developmental Studies Hybridoma Bank) and laminin (2E8; Developmental Studies Hybridoma Bank). Visualization of Pax7⁺SCs was performed by successive incubations with a biotinylated horse-antimouse secondary antibody (Vector BA-9200; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), Vectastain ABC (PK6100; Vector Laboratories) reagent and DAB substrate kit (SK-4100; Vector Laboratories). Pax7⁺SCs were stained brown and visualized using light microscopy. Visualization of the antibody mixture containing A4.840 and 2E8 was achieved by incubation with Alexa Fluor 488 goat-antimouse (Invitrogen A/S, Carlsbad, CA, USA) yielding green fluorescent staining. Sections were then mounted with Molecular Probes Prolong Gold antifade reagent (Invitrogen A/S). This first step allowed the visualization on the same section of brown-stained Pax7⁺SCs using light microscopy and green fluorescent basal lamina and type I muscle fibres using fluorescent microscopy (Figure 1). Type II fibres are unstained. The second step of the procedure allows type IIA and IIX muscle fibres to be distinguished by incubating the second section with the mAb N2.261 (Developmental Studies Hybridoma Bank) and with the Alexa Fluor 488 goat-antimouse secondary antibody (Invitrogen A/S). The number of Pax7⁺SCs per fibre was assessed in types I and II fibres. All counts were performed three times. Fibre area was measured using Sigma Scan Pro 5 software (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

As small regenerating muscle fibres are among the histopathological hallmarks of DMD and other muscle pathologies, sections were also stained with a mAb against CD56 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)

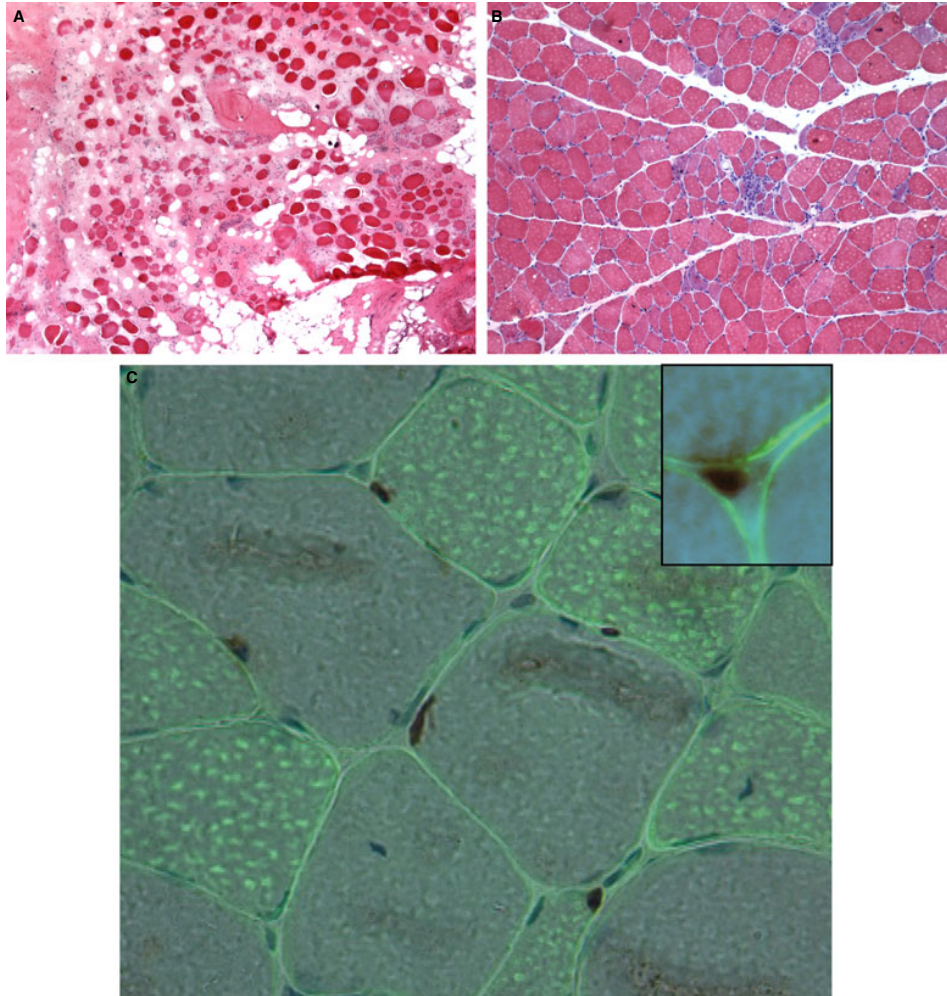


Figure 1. Muscle cross-sections stained with haematoxylin and eosin A, B. Typical features of Duchenne muscular dystrophy such as structural disruption with irregular fibre size, necrosis and excessive fibrosis can be seen in A. Muscle morphology can be less affected in polymyositis/dermatomyositis despite the presence of inflammatory and necrotic foci and interstitial fibrosis as shown in B. The fibre type-specific identification of satellite cells is shown in C, satellite cells are stained brown with Pax7 antibody, whereas laminin and type I fibres are stained with fluorescent green using 2E8 and A4.840 antibodies, respectively. Insert: a Pax7⁺ cell located outside the basal lamina.

to visualize very small fibres. Double immunofluorescence, as described previously,⁹ using mAbs against Pax7 and the cell-cycle-specific marker Ki-67 (Biocare Medical, Concord, CA, USA) was used in order to determine the number of activated SCs. This staining

procedure revealed that all Ki-67-positive nuclei were SCs. We also performed double immunofluorescence staining using Ki-67 (Biocare Medical) and laminin (2E8; Developmental Studies Hybridoma Bank) antibodies in order to determine the exact location of

Ki-67⁺ cells. The proportion of Ki-67⁺ SCs was calculated as follows: (Ki-67⁺SCs/Pax7⁺SCs) × 100.

STATISTICAL ANALYSIS

Data are expressed as means ± SD. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. Differences between groups were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA). The Kruskal–Wallis test was used when assumptions for ANOVA were not met. Differences between types I and II muscle fibres were assessed using paired *t*-tests. Pearson's correlation coefficient was used to assess the relationship between two variables. Statistical significance was set at the 0.05 level. Statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 18.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

Results

In DMD and PM/DM, but not in controls, histological analyses revealed pathological changes such as the occurrence of fibrosis and fibres with internal myonuclei. Fibrosis was limited in PM/DM, while it was more extensive in DMD. The proportion of type I fibres was 48 ± 27% in DMD, 70 ± 19% in PM/DM and 51 ± 12% in controls. The proportion of type II fibres was significantly lower in DMD (5 ± 4%) compared to both PM/DM (30 ± 19%) and controls (49 ± 12%). In DMD only, the proportion of small regenerating fibres was high and reached 47% of all fibres. We found an inverse relationship between the number of small regenerating muscle fibres and Pax7⁺SC content in type I muscle fibres ($r = -0.78$; $P < 0.05$).

The number of Pax7⁺SCs in types I and II fibres is shown in Table 1. Pax7⁺SC content in DMD was

approximately two- and sevenfold higher than that of PM/DM and control subjects, respectively ($P < 0.05$). The analysis of the fibre type-specific Pax7⁺SC content showed that type I fibres are associated with a higher number of Pax7⁺SCs compared to type II fibres in DMD but not in PM/DM and controls. The number of Pax7⁺SCs in types I and II fibres was significantly higher ($P < 0.05$) in DMD compared to controls and in PM/DM compared to controls. The number of Pax7⁺SCs in type I fibres was about threefold higher in DMD compared to PM/DM ($P < 0.05$); there were no significant differences in Pax7⁺SC content in type II fibres between DMD and PM/DM. In this study, we also investigated whether small regenerating fibres contain Pax7⁺SCs (Figure 2A). We found that Pax7⁺SC content in the small regenerating fibres reached 0.09 ± 0.09 SCs/fibre, which is similar to that in muscle fibres from healthy skeletal muscle.

The assessment of SC status showed that the proportion of activated SCs (Ki-67⁺SCs) (Figure 2B) in relation to the total number of Pax7⁺SCs was fivefold lower in DMD (0.4 ± 0.4%) compared to that in PM/DM (2.8 ± 2%).

Interestingly, cells stained with Pax7 antibody and located outside the basal lamina were observed in DMD muscles (Figure 1). Due to their location these cells were labelled Pax7⁺ cells rather than Pax7⁺SC, which are located beneath the basal lamina. Pax7⁺ cells were never observed in PM/DM or controls. The proportion of Pax7⁺ cells was 8 ± 6% of the total Pax7⁺SC content in DMD muscles.

Discussion

The present study revealed an elevation of SC content in two different models of muscle disorder with different pathological mechanisms and onset of disease. Interestingly, a fibre type-specific SC distribution

Table 1. The number of Pax7⁺SCs per fibre in DMD, PM/DM and controls

Muscle	Pax7 ⁺ SC in type I	Pax7 ⁺ SC in type II	Total Pax7 ⁺ SC
DMD	0.58 ± 0.58*†‡	0.20 ± 0.05†	0.53 ± 0.57†‡
PM-DM	0.20 ± 0.12†	0.22 ± 0.15†	0.19 ± 0.10†
Controls	0.07 ± 0.01§	0.06 ± 0.02§	0.07 ± 0.01§

*Significantly different compared to Pax7⁺SC in Type II.

†Significantly different compared to Controls.

‡Significantly different compared to PM/DM.

§Data from the reference.¹⁰

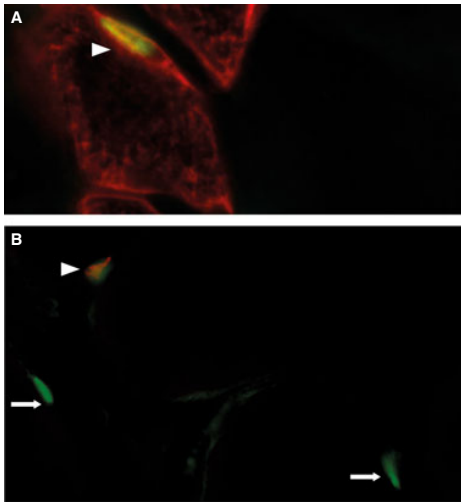


Figure 2. Double immunofluorescence staining using: A, Pax7 antibody (green) and CD56 antibody (red) and B, Pax7 antibody (green) and Ki-67 (red). In A, note the green Pax7⁺SC (arrowhead) within a regenerated muscle fibre expressing CD56 (red). In B, arrows show Pax7⁺SCs (stained green) and the arrowhead shows a Pax7⁺SC positive for Ki-67 (red).

exists in DMD. The present study expands data from previous studies reporting an increase in SC content in DMD^{8,21,22} and revealed a pronounced elevation of SC content in type I muscle fibres. Recently, Pax7⁺SC content in DMD was found to be elevated in both vastus lateralis and rectus femoris despite the advanced stage of the disease;²⁴ a fibre type-specific assessment of SC distribution was not carried out. In agreement with data from Maier and Bornemann,²² the number of Pax7⁺SCs in DMD was significantly higher than in PM/DM, which suggests differences in the regenerative need of skeletal muscle in these two models of muscle disease. The high SC content in diseased muscle is attributed traditionally to the permanent need for muscle fibre repair. In murine skeletal muscle, Heimann *et al.*²⁵ found a relationship between the rate of degeneration/regeneration and SC content. Similarly, an association between enhanced SC content and the severity of symptoms has been observed in patients with myotonic dystrophy.²⁶ The difference in SC content between DMD and PM/DM underlines the difference in regenerative need between a model of irreversible intrinsic/genetic muscle degeneration of early onset (DMD), and a model of extrinsic/acquired

subacute muscle degeneration of recent onset (PM/DM).

Our study revealed a more pronounced enhancement of the SC pool in type I muscle fibres in DMD. As the generation of new SCs in a diseased muscle can be considered as a rescue mechanism aiming to preserve muscle integrity, our findings suggest that this adaptive mechanism is greater in type I muscle fibres in DMD. Interestingly, together with the lower number of Pax7⁺SCs in type II compared to type I fibres, there was a pronounced reduction in the proportion of type II muscle fibres in DMD. Marked reductions in fast type II fibres are reported frequently in humans and in animal models of DMD.^{27–31} Muscle samples in DMD cases were obtained from paravertebral muscles, as the function of limb muscles is already severely impaired and vastus lateralis muscle mainly contains fibrous tissue. In paravertebral muscle from healthy subjects, the proportion of type II fibres ranges between 31% and 38% of total muscle fibre composition.^{32,33} Therefore, the greater increase in Pax7⁺SC in type I compared to type II muscle fibres can be considered as a factor favouring the specific survival of type I muscle fibres in DMD. In agreement with this hypothesis, it has been suggested that type I fibres have a better capacity to resist dystrophic stress compared to type II fibres.³¹ Similarly, the decline in the size and number of muscle fibres occurring preferentially in type II muscle fibres in elderly people has been associated with a specific decline in SC content in type II fibres.^{16,34}

Interestingly, despite the advanced stage of disease and the severe impairment of muscle function in DMD patients, the remaining muscle fibres contain a high SC pool. As stated by Heimann *et al.*,²⁵ an enhancement of the SC pool may appear contrary to the general assumption that an ongoing severe muscle disease leading to loss of muscle fibres would deplete the SC pool. Our findings suggest that the process of generation of SCs remains very active, even in severely impaired skeletal muscle, and this is supported by our additional finding that SC numbers in the small regenerating muscle fibres in DMD are within the normal range of values reported in healthy skeletal muscle.^{9,16} Thus, the occurrence of fibrosis and loss of muscle fibres in DMD must reflect the importance of events subsequent to the generation of new SCs and leading to the generation of a new muscle fibre. For example, Kottlors and Kirschner²⁴ highlighted impairments in key regulators of muscle differentiation in DMD. Interestingly, our study also revealed that the proportion of active SCs (Ki-67⁺SCs) in DMD is similar to that in controls and lower than

that in PM/DM, and that Pax7⁺SC content in type I fibres in DMD is correlated inversely with the percentage of small regenerating fibres. Although the use of markers such as Ki-67 on muscle biopsies obtained at a given stage of disease provides only limited information regarding the ongoing process of cell activation and proliferation, together these two findings may be regarded as signs of a progressive decline in the capacity to generate new muscle tissue. The present study revealed the presence of Pax7⁺ cells located outside the basal lamina in DMD muscles only. To our knowledge, this observation has never been made previously in normal muscle tissue. Although speculative, the occurrence of Pax7⁺ cells in severely impaired DMD muscles may be explained by a migration of SCs following muscle fibre destruction.

In conclusion, the present investigation revealed important features related to SC behaviour in diseased muscle. The capacity to generate new SCs is increased even in severely impaired muscles, and a fibre type-specific enhancement of SCs occurs in type I muscle fibres in DMD. The study highlights the fact that even in skeletal muscle affected by disease lasting several years, the remaining muscle fibres still contain a high number of SCs.

Acknowledgements

All authors contributed to the work. This study received financial support from The French Muscular Dystrophy Association (AFM-Téléthon).

References

1. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1961; **9**: 493–495.
2. Bischoff R, Heintz C. Enhancement of skeletal muscle regeneration. *Dev. Dyn.* 1994; **201**: 1–54.
3. Grounds MD. Muscle regeneration: molecular aspects and therapeutic implications. *Curr. Opin. Neurol.* 1999; **12**: 35–43.
4. Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J. Appl. Physiol.* 2001; **91**: 534–551.
5. Moss FP, Leblond CP. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *Anat. Rec.* 1971; **170**: 421–435.
6. Kadi F, Charifi N, Denis C et al. The behaviour of satellite cells in response to exercise; what have we learned from human studies? *Pflugers Arch.* 2005; **451**: 19–27.
7. Schmalbruch H, Hellhammer U. The number of satellite cells in normal human muscle. *Anat. Rec.* 1976; **185**: 279–287.
8. Watkins SC, Cullen MJ. A quantitative study of myonuclear and satellite cell nuclear size in Duchenne's muscular dystrophy, polymyositis and normal human skeletal muscle. *Anat. Rec.* 1988; **222**: 6–11.
9. Mackey AL, Kjaer M, Charifi N et al. Assessment of satellite cell number and activity status in human skeletal muscle biopsies. *Muscle Nerve* 2009; **40**: 55–65.
10. Kadi F, Charifi N, Henriksson J. The number of satellite cells in slow and fast fibres from human vastus lateralis muscle. *Histochem. Cell Biol.* 2006; **126**: 83–87.
11. Verdijk LB, Gleeson BG, Jonkers RA et al. Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2009; **64**: 332–339.
12. Gibson MC, Schultz E. Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells. *Muscle Nerve* 1983; **6**: 74–80.
13. Kadi F, Charifi N, Denis C, Lexell J. Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. *Muscle Nerve* 2004; **29**: 120–127.
14. Renault V, Rolland E, Thornell LE, Mouly V, Butler-Browne G. Distribution of satellite cells in the human vastus lateralis muscle during aging. *Exp. Gerontol.* 2002; **37**: 1513–1514.
15. Sajko S, Kubinova L, Cvetko E, Kreft M, Wernig A, Erzen I. Frequency of M-cadherin-stained satellite cells declines in human muscles during aging. *J. Histochem. Cytochem.* 2004; **52**: 179–185.
16. Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, Meijer K, Savelberg HH, van Loon LJ. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; **292**: E151–E157.
17. Verney J, Kadi F, Charifi N et al. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle Nerve* 2008; **38**: 1147–1154.
18. Blau HM, Webster C, Pavlath GK. Defective myoblasts identified in Duchenne muscular dystrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1983; **80**: 4856–4860.
19. Fujiwara T, Tanabe A, Uchikawa K et al. Activities of daily living (ADL) structure of patients with Duchenne muscular dystrophy, including adults. *Keio J. Med.* 2009; **58**: 223–226.
20. Mustafa KN, Dahbour SS. Clinical characteristics and outcomes of patients with idiopathic inflammatory myopathies from Jordan 1996–2009. *Clin. Rheumatol.* 2010; **29**: 1381–1385.
21. Ishimoto S, Goto I, Ohta M, Kuroiwa Y. A quantitative study of the muscle satellite cells in various neuromuscular disorders. *J. Neurol. Sci.* 1983; **62**: 303–314.
22. Maier F, Bornemann A. Comparison of the muscle fiber diameter and satellite cell frequency in human muscle biopsies. *Muscle Nerve* 1999; **22**: 578–583.
23. Wakayama Y. Electron microscopic study on the satellite cell in the muscle of Duchenne muscular dystrophy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1976; **35**: 532–540.
24. Kottlors M, Kirschner J. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell Tissue Res.* 2010; **340**: 541–548.
25. Heimann P, Menke A, Rothkegel B, Jockusch H. Overshooting production of satellite cells in murine skeletal muscle affected by the mutation 'muscular dystrophy with myositis' (mdm, Chr 2). *Cell Tissue Res.* 1996; **283**: 435–441.
26. Thornell LE, Lindstrom M, Renault V et al. Satellite cell dysfunction contributes to the progressive muscle atrophy in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2009; **35**: 603–613.
27. Webster C, Silberstein L, Hays AP, Blau HM. Fast muscle fibers are preferentially affected in Duchenne muscular dystrophy. *Cell* 1988; **52**: 503–513.
28. Marini JF, Pons F, Leger J et al. Expression of myosin heavy chain isoforms in Duchenne muscular dystrophy patients and carriers. *Neuromuscul. Disord.* 1991; **1**: 397–409.

29. Lanfossi M, Cozzi F, Bugini D *et al*. Development of muscle pathology in canine X-linked muscular dystrophy. I. Delayed postnatal maturation of affected and normal muscle as revealed by myosin isoform analysis and utrophin expression. *Acta Neuropathol.* 1999; **97**: 127–138.
30. Muller J, Vayssiere N, Royuela M *et al*. Comparative evolution of muscular dystrophy in diaphragm, gastrocnemius and masseter muscles from old male mdx mice. *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 2001; **22**: 133–139.
31. Yuasa K, Nakamura A, Hijikata T, Takeda S. Dystrophin deficiency in canine X-linked muscular dystrophy in Japan (CXMDJ) alters myosin heavy chain expression profiles in the diaphragm more markedly than in the tibialis cranialis muscle. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2008; **9**: 1.
32. Mannion AF, Dumas GA, Cooper RG, Espinosa FJ, Faris MW, Stevenson JM. Muscle fibre size and type distribution in thoracic and lumbar regions of erector spinae in healthy subjects without low back pain: normal values and sex differences. *J. Anat.* 1997; **190**: 505–513.
33. Mannion AF, Weber BR, Dvorak J, Grob D, Muntener M. Fibre type characteristics of the lumbar paraspinal muscles in normal healthy subjects and in patients with low back pain. *J. Orthop. Res.* 1997; **15**: 881–887.
34. Kadi F, Ponsot E. The biology of satellite cells and telomeres in human skeletal muscle: effects of aging and physical activity. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 2010; **20**: 39–48.

**ETUDE II : EVALUATION DE LA FORCE ET DE LA
FATIGUE DU QUADRICEPS PAR STIMULATION
MAGNETIQUE DU NERF FEMORAL DANS LES
MYOPATHIES ET NEUROPATHIES.**

1. Introduction et objectifs

L'absence de test objectif d'évaluation de la fonction neuromusculaire dans le cadre des MNMs incite à la mise en place d'un test reproductible, sensible à de faibles variations individuelles, et capable d'apporter une mesure quantifiée de la fonction musculaire d'un patient. Notre équipe a récemment contribué à montrer que la stimulation magnétique apportait des gages de sécurité en termes de reproductibilité et de fiabilité lorsqu'elle est comparée à la méthode de référence de neurostimulation électrique (Millet et al., 2012; Verges et al., 2009a). En plus de cette fiabilité, cette méthode restreint la sensation d'inconfort ressentie lors de tests par stimulation électrique.

C'est pourquoi son application dans l'évaluation des patients porteurs de maladies neuromusculaires nous est apparue envisageable. Cette méthode appelé « QIF test » a donc été évaluée afin d'apprécier sa faisabilité et sa reproductibilité chez les sujets porteurs de MNMs. L'objectif était d'évaluer les relations existant entre la fonction neuromusculaire du quadriceps ainsi testée, les capacités fonctionnelles, l'inconfort et la qualité de vie des patients en les comparant à un groupe de sujets sains

La validation de cet outil dans les pathologies neuromusculaires et plus spécifiquement dans le cadre de la dystrophie facio-scapulo-humérale, était indispensable pour envisager son utilisation dans le cadre de notre troisième étude intitulée « Thérapie par l'exercice ».

2. Methodologie

Population: Deux groupes de patients, myogènes (dix-neuf patients FSHD) et neurogènes (huit patients porteurs de la maladie de Charcot-Marie-Tooth, CMT) et vingt-trois sujets sains mariés en âge, en poids et en taille ont été recrutés dans le cadre de ce travail.

Matériels et méthodes: Ils ont tous réalisé une épreuve maximale d'effort (EFX) et un test de marche de 6 minutes (TM6) puis un QIF test, lors des deux premières visites, séparées d'au moins 72 heures. Lors d'une troisième et dernière visite, les patients ont réalisé uniquement un QIF test et des questionnaires de qualité de vie. L'ensemble de ces évaluations ont été réalisées au laboratoire.

1. Mesures de la fonction neuromusculaire (QIF test)

Elles ont été consacrées au bilan de force et de fatigabilité musculaire du quadriceps. Elles ont duré entre 2h et 2h30.

a. Evaluation de force du quadriceps

Brièvement, le patient est installé dans une position semi-allongée (angle de la hanche à 130 degrés), de façon à permettre la stimulation magnétique transcutanée du nerf fémoral (non invasive et indolore) tout en assurant son confort relatif pendant la réalisation de l'exercice isolé du quadriceps. Le genou est fléchi à 90 degrés et la cheville est reliée à la jauge de contrainte mesurant la force développée par le quadriceps. Les stimulations du nerf fémoral (nerf moteur du quadriceps) sont réalisées avec un stimulateur magnétique de type Magstim 200 (Magstim Co. Ltd., Pays de Galles). La force maximale est mesurée dans trois situations : i) au cours d'une contraction maximale volontaire, ii) lors d'une stimulation magnétique concomitante à une contraction volontaire sous-maximale ou maximale, et iii) lors de stimulations magnétiques uniques ou en doublets (fréquences de 10 et 100 Hz) réalisées immédiatement après une contraction maximale volontaire (Figure 21).

b. Evaluation de l'endurance et de la fatigabilité du quadriceps

Les patients sont maintenus dans la même position que lors de l'évaluation de la force du quadriceps avec la cheville reliée à la jauge de contrainte. Ils effectuent des extensions isométriques intermittentes de la jambe (5 s de contraction, 5 s de relâchement). Un ordinateur placé devant le patient permet de lui indiquer visuellement la force cible qu'il doit maintenir pendant la contraction ainsi que le rythme de contraction-relâchement. Le test consiste tout d'abord en 10 contractions à 10% de la force maximale volontaire mesurée préalablement, suivies de 10 contractions à 20% de la force maximale volontaire, 10 contractions à 30% etc., jusqu'à épuisement du sujet ou son incapacité à maintenir le niveau de force demandé ('task failure'). Après chaque série de 10 contractions, le patient réalise deux contractions maximales volontaires avec stimulations magnétiques surimposées telles que réalisées lors de l'évaluation de la force initiale.



Figure 20 : Déroulement de l'évaluation de l'endurance et de la résistance à la fatigue du quadriceps. A gauche, le sujet est installé sur la chaise et retenu par une ceinture pour éviter une bascule du corps. A droite, on observe la position de l'aimant de stimulation magnétique et des électrodes d'EMG.

Le signal électromyographique (EMG) du *vastus lateralis* est enregistré en continu par 2 électrodes autocollantes cutanées de façon à évaluer les caractéristiques de l'onde M évoquée par stimulation ainsi que l'intensité du signal EMG (root mean square, RMS) lors des contractions volontaires. Ces données permettent d'évaluer d'éventuelles altérations au niveau de la jonction neuromusculaire/propagation des potentiels d'action et au niveau de la commande centrale (Figure 20).

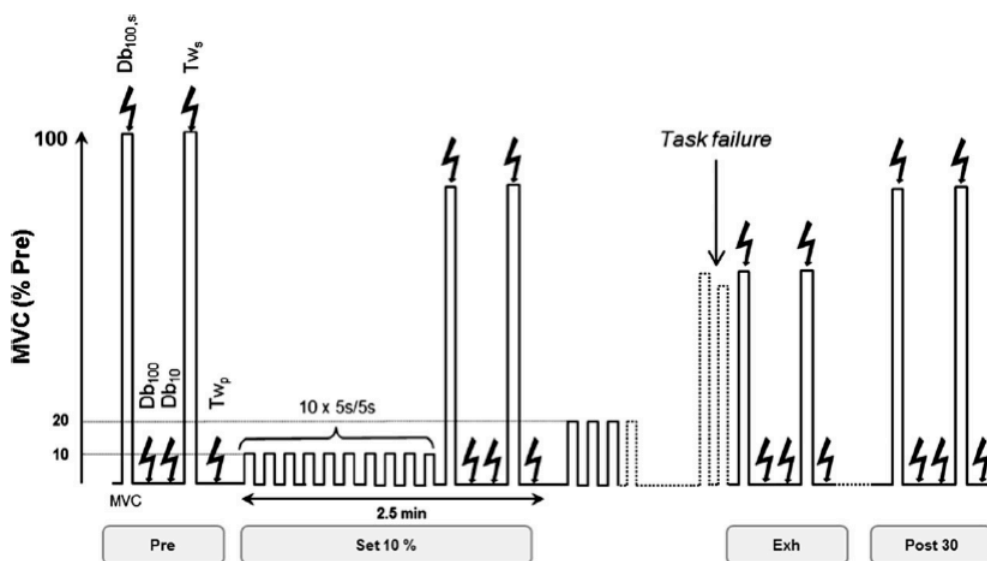


Figure 21 : Déroulement de l'évaluation de l'endurance et de la résistance à la fatigue du quadriceps

2. Epreuve maximale progressive sur cycloergometre

Les mesures ont été réalisées lors de l'épreuve maximale métabolique sur bicyclette ergométrique (Monark 868, Monark, Suède) pour évaluer la MAP et la VO_2 max. La bicyclette est équipée d'un boîtier électronique permettant de connaître la puissance développée de façon instantanée.

Le test commence par 5 minutes de pédalage à 20, 40 ou 60 W selon l'état de forme physique du patient. Puis la puissance augmente de 10, 20 ou 30 W (selon les caractéristiques du patient) toutes les deux minutes de façon régulière jusqu'à épuisement volontaire du patient. La durée de l'épreuve est comprise entre 10 et 15 minutes pour chaque patient. La fréquence de pédalage est maintenue constante autour de 70 tours par minute. Le sujet effectue ce test jusqu'à ce qu'il ne soit plus capable de maintenir la fréquence de pédalage malgré les encouragements des expérimentateurs. Un masque facial permet de recueillir les gaz expirés pour détermination des fractions expirées en O_2 et en CO_2 , la consommation d'oxygène la fréquence cardiaque à l'aide d'un système automatique de mesures des échanges gazeux (Ergocard, Medisoft Schiller, Belgique). Trois minutes après la fin de l'exercice, le taux de lactate sanguin est mesuré à partir d'un échantillon de sang capillaire recueilli au bout du doigt (Rimaud et al., 2010)

3. Resultats – Discussion

Ce travail a montré à la fois une reproductibilité et une application de la neurostimulation magnétique utilisée lors d'une MVC ou de contractions sous-maximales pour évaluer la force, l'endurance et la fatigue du quadriceps chez la majorité des patients porteurs d'une myopathie FSHD. Les procédures d'évaluations telles que présentées par le « QIF test » permettent en effet d'évaluer 70% de l'ensemble des sujets FSHD (30% n'ont pu répondre favorablement à la supra-maximalité). La contraction musculaire ($CV_{TE} < 10\%$ et $ICC > 0.8$ pour les réponses évoquées sur le muscle relâché) et l'activation volontaire ($CV_{TE} < 8\%$) semblent être applicables et reproductibles chez les patients FSHD. A l'inverse, aucune supra-maximalité n'a pu être obtenue chez les patients CMT. Comparées aux sujets sains, les cinétiques de la fatigue centrale et de la fatigue périphérique induites par la neurostimulation magnétique sont similaires chez les patients FSHD. Il semblerait que la tolérance à l'effort des patients soit liée à leur faiblesse musculaire. Par ailleurs, les patients FSHD présentent un niveau d'activation supérieur à celui des sujets sains contrôles, ce qui suggère que potentiellement, les patients

ayant une masse musculaire faible semblent être ceux qui recrutent une plus grande partie de leur force maximale dans les actes quotidiens de la vie.

4. Conclusion

De par sa reproductibilité, le QIF test utilisant la stimulation magnétique semble être un outil fiable et utilisable pour évaluer la fonction neuromusculaire de patients porteurs d'atteintes myogènes comme la FSHD. En revanche, chez les sujets porteurs d'une atteinte neurogène de type CMT, elle ne permet pas une évaluation complète en raison des troubles de conduction nerveuse. Notons également que chez des sujets sains de masse adipeuse importante, cette technique présente aussi des limites.

Article 2 - Quadriceps strength et fatigue assessed by femoral nerve magnetic stimulation in myogenic et neurogenic disorders.

Bachasson D, Temesi J, **Bankolé C**, Lagrange E, Boutte C, Millet GY, Verges S, Levy P, Féasson L, Wuyam B. **Clinical Neurophysiology**, 2013 Aug 31.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec nos collègues du Laboratoire Hypoxie-Physiopathologie (HP2), INSERM U1042, l'université Joseph Fourier de Grenoble, France.

QUADRICEPS STRENGTH AND FATIGUE ASSESSED BY FEMORAL NERVE MAGNETIC STIMULATION IN MYOGENIC AND NEUROGENIC DISORDERS

Damien BACHASSON ^{a,b}, John TEMESI ^d, Landry-Cyrille BANKOLE ^{d,f}, Emmeline LAGRANGE ^{c,e}, Célia BOUTTE ^{c,e}, Guillaume Yves MILLET ^{b,d}, Samuel VERGES ^{a,b}, Patrick LEVY ^{a,b,c}, Léonard FEASSON ^{d,e,f}, Bernard WUYAM ^{a,b,c}

^a Université Joseph Fourier, Laboratoire HP2, F-38000, Grenoble, France.

^b INSERM, U1042, F-38000, Grenoble, France.

^c CHU de Grenoble, Pole Locomotion, Rééducation et Physiologie, Clinique Physiologie, Sommeil et Exercice, F-38000, Grenoble, France.

^d Université de Lyon, Laboratoire de Physiologie de l'Exercice, F-42023, Saint-Etienne, France

^e Centres Référent Maladies Neuro Musculaires Rares Rhône Alpes

^f CHU de St Etienne, Unité de Myologie, F-42055, St Etienne, France.

Corresponding author:

Dr VERGES Samuel

Laboratoire HP2 (INSERM U 1042), UF Recherche sur l'Exercice, Hôpital Sud

Avenue Kimberley

38 434 Echirolles, France

Tel: +33 4 76 76 68 60; Fax: +33 4 76 76 89 21



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Neurophysiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinph

Assesment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation

D. Bachasson^{a,b,c}, J. Temesi^d, C. Bankole^{d,f}, E. Lagrange^{c,e}, C. Boutte^{c,e}, G.Y. Millet^{b,d}, S. Verges^{a,b,*}, P. Levy^{a,b,c}, L. Feasson^{d,e,f}, B. Wuyam^{a,b,c}

^a Université Joseph Fourier, Laboratoire HP2, F-38000 Grenoble, France

^b INSERM, U1042, F-38000 Grenoble, France

^c CHU de Grenoble, Pole Locomotion, Rééducation & Physiologie, Clinique Physiologie, Sommeil et Exercice, F-38000 Grenoble, France

^d Université de Lyon, Laboratoire de Physiologie de l'Exercice, F-42023 Saint-Etienne, France

^e Centres Référent Maladies Neuromusculaires Rares Rhône Alpes, CHU de Grenoble, F-38000 Grenoble, France

^f CHU de St Etienne, Unité de Myologie, F-42055 St. Etienne, France

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 1 August 2013

Available online xxxx

Keywords:

Fascioscapulothoracic dystrophy

Charcot-Marie-Tooth disease

Hereditary motor and sensory neuropathy

Femoral magnetic nerve stimulation

Muscle strength

Muscle fatigue

Muscle endurance

Neuromuscular diseases

Experienced fatigue

HIGHLIGHTS

- Reliable assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue can be obtained over a single session in patients with neuromuscular diseases by using the quadriceps intermittent fatigue (QIF) test.
- Femoral nerve magnetic stimulation exhibits limitations due to insufficient stimulation intensity in ~30% of patients with fascioscapulothoracic dystrophy (FSHD) and in all patients with Charcot-Marie-Tooth disease (CMT).
- Patients with FSHD and CMT exhibit similar endurance and neuromuscular fatigue compared to healthy controls during standardized isolated quadriceps contractions.

ABSTRACT

Objectives: To (i) evaluate the feasibility and the reliability of a test assessing quadriceps strength, endurance and fatigue in patients with fascioscapulothoracic dystrophy (FSHD) and Charcot-Marie-Tooth disease (CMT), (ii) compare quadriceps function between patients and healthy controls.

Methods: Controls performed the test once and patients twice on two separate visits. It involved progressive sets of 10 isometric contractions each followed by neuromuscular assessments with FNMS.

Results: Volitional assessment of muscle strength, endurance and fatigue appeared to be reliable in FSHD and CMT patients. Supramaximal FNMS was achieved in ~70% of FSHD patients and in no CMT patients. In FSHD patients, femoral nerve magnetic stimulation (FNMS) provided reliable assessment of central (typical error as a coefficient of variation (CV_{TE}) < 8% for voluntary activation) and peripheral (CV_{TE} < 10% and intraclass coefficient correlation > 0.85 for evoked responses) function. Patients and controls had similar reductions in evoked quadriceps responses, voluntary activation and similar endurance.

Conclusions: This test provides reliable evaluation but FNMS exhibits limitations due to insufficient stimulation intensity particularly in neurogenic conditions. It showed similar central and peripheral quadriceps fatigability in patients and controls.

Significance: This test may be a valuable tool for patient follow-up although further development of magnetic stimulation devices is needed to extend its applicability.

© 2013 Published by Elsevier Ireland Ltd. on behalf of International Federation of Clinical Neurophysiology.

Abbreviations: CMT, Charcot-Marie-Tooth disease; Db₁₀, 10-Hz potentiated doublets; Db₁₀:Db₁₀₀, peak potentiated 10-Hz doublets/peak potentiated 100-Hz doublets; Db₁₀₀, 100-Hz potentiated doublets; FNMS, femoral nerve magnetic stimulation; FSHD, fascioscapulothoracic dystrophy; MVC, maximal voluntary contraction; MVC_{RMS/EMG}, root mean squared calculated from vastus lateralis EMG signal normalized to M-wave amplitude during maximal voluntary contraction; SF-36, medical outcomes study short-form; Tw_p, potentiated single twitch; VA, maximal voluntary activation.

* Corresponding author. Address: Laboratoire HP2 (INSERM U 1042), UF Recherche sur l'Exercice, Hôpital Sud, Avenue Kimberley, 38 434 Echirolles, France. Tel.: +33 4 76 76 68 60; fax: +33 4 76 76 89 21.

E-mail address: sverges@chu-grenoble.fr (S. Verges).

1388-2457/\$36.00 © 2013 Published by Elsevier Ireland Ltd. on behalf of International Federation of Clinical Neurophysiology.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assesment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

1. Introduction

In patients with neuromuscular disorders, muscle weakness leads to severe impairment of functional capacities with negative influence on physical activity and participation. Experienced fatigue (i.e. tiredness, lack of energy and feeling of exhaustion not necessarily induced by exercise) is a common symptom in neuromuscular diseases (Angelini and Tasca, 2012; Chaudhuri and Behan, 2004). In addition to muscle weakness, enhanced subjective muscle fatigability is also reported by patients (Feasson et al., 2006). Availability of reliable and well-tolerated non-invasive evaluation of neuromuscular function (i.e. strength, endurance and fatigue) in patients with neuromuscular disorders is critical to provide relevant outcomes for observational and interventional studies.

Strength production embraces mechanisms within all levels of the motor pathway from the brain to skeletal muscle and are classically classified as central (neural) or peripheral (muscular). Similarly, neuromuscular fatigue (i.e. exercise-induced reduction in voluntary strength (Bigland-Ritchie et al., 1978)) involves peripheral (i.e. alterations in muscle contractility) and central (i.e. reduction in muscle activation during voluntary contractions caused by a decrease in motoneuron output at the spinal or/and supraspinal level (Gandevia, 2001)) mechanisms. Procedures to assess maximal voluntary strength are well-documented in both healthy subjects (Hogrel et al., 2007) and patients (Horemans et al., 2004) but exhibit numerous limitations (e.g. effects of patient cooperation/motivation, fear of pain or muscle damage, joint dysfunction and lack of distinction between central and peripheral factors). To overcome these limitations, artificial mechanical and electrophysiological responses evoked via muscle or peripheral nerve stimulation can be used to assess muscle contractility and the degree of muscle activation before and throughout a fatiguing task (see Millet et al. (2012) for review). However, the lack of standardized procedures concerning stimulation patterns and fatiguing tasks often makes results difficult to interpret. For instance, Schillings et al. (2007) used muscle electrical stimulation to assess biceps brachii muscle function in patients with myogenic or neurogenic disorders. The authors reported impaired voluntary activation at rest and smaller peripheral fatigue in patients (i.e. smaller reduction in evoked muscular responses compared to healthy controls) following a 2-min sustained isometric maximal voluntary contraction (MVC). In this work, impaired initial activation level leading to lower strength production in patients during the 2-min MVC might explain lower peripheral fatigue in patients compared to controls. In addition, the use of uncomfortable 100-Hz electrical stimulation trains was potentially responsible for submaximal activation in patients and the use of submaximal unpotentiated (rather than supramaximal potentiated) evoked responses while assessing peripheral fatigue (Kufel et al., 2002; Millet et al., 2012) also raised methodological concerns.

We recently developed a new clinical test to assess quadriceps function (Quadriceps Intermittent Fatigue test: QIF) involving intermittent isometric contractions and repetitive neuromuscular assessment via femoral nerve magnetic stimulation (FNMS). In healthy subjects, FNMS provides similar results to electrical stimulation as recently shown by our group (Verges et al., 2009) and is better tolerated than electrical stimulation in patients (Szecsi et al., 2010). The design of the QIF test has the advantage of (i) evaluating the changes in central and peripheral fatigue development rather than a final measurement only, (ii) limiting the influence of psychological and motivational confounding factors using progressive loading and multiple assessments, and (iii) limiting the discomfort associated with stimulations by using single and double stimulations rather than stimulation trains. We first showed that the QIF test is reliable in healthy subjects (Bachasson et al.,

2013a) and then that it is well-tolerated and meaningful in patients with fibromyalgia syndrome (Bachasson et al., 2013b). The reliability of a comprehensive procedure to assess quadriceps strength, endurance and fatigue with the support of FNMS in patients with neuromuscular diseases remains to be evaluated.

Accordingly, we evaluated the feasibility and the reliability of the QIF test in patients with neuromuscular disorders. We studied patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD) and patients with Charcot-Marie-Tooth disease (CMT), among the most prevalent genetically-inherited muscular dystrophies and polyneuropathies in adults, respectively. We hypothesized that (i) the QIF test and FNMS are safe and reliable in patients with neuromuscular disorders, (ii) patients with neuromuscular disorders would have larger peripheral and central fatigue during the QIF test compared to a group of healthy controls. To clarify the functional consequences of muscle dysfunction in patients, we also assessed the relationship between quadriceps function, exercise capacity, functional capacities and experienced fatigue assessed by questionnaires.

2. Methods

2.1. Subjects

Nineteen FSHD patients (chromosome 4 linked) and eight CMT (type IA) patients with confirmed genetic diagnosis and twenty-three healthy controls volunteered to participate in this study. Twenty-three healthy subjects were enrolled to build two control groups ($n = 19$ and $n = 8$) matched for age, sex and BMI with the two groups of patients. Main subjects characteristics are presented in Table 1. All patients were able to walk and had neither contraindication for maximal exercise testing nor severe knee condition. All subjects gave their written informed consent to participate in this study. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki with approval from the local Committee on Human Research (Comité de protection des personnes Sud-EST V).

2.2. Study design

During the first visit, patients and controls had a clinical examination and answered questionnaires. During the second visit, subjects performed a 6-min walk test and, after one hour of rest, they performed a maximal incremental exercise test on a cycle ergometer. During the third visit, subjects performed a QIF test. Twelve FSHD patients and all CMT patients had a fourth visit to repeat the QIF test in order to assess between-day reliability.

2.3. Anthropometric measurements

Body fat percentage was assessed from four skin folds (Durnin and Womersley, 1974). We estimated quadriceps volume based on a truncated cone calculation using three thigh circumferences and thigh skin fold (Jones and Pearson, 1969).

2.4. Questionnaires

Quality of life was evaluated with the Medical Outcomes Study Short-Form (SF-36) (Aaronson et al., 1992). Experienced fatigue was evaluated with the fatigue severity scale (Krupp et al., 1989).

2.5. Maximal cycling test

Subjects performed a standard maximal incremental exercise test on a computer-controlled electrically braked cycle ergometer (Ergometrics 800, Ergoline, Bitz, Germany) with breath-by-breath gas analysis and electrocardiogram (Medisoft, Dinant, Belgium)

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

Table 1
Characteristics of patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD), Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) and controls.

	FSHD (n = 19)	Controls (n = 19)	P values	CMT (n = 8)	Controls (n = 8)	P values
<i>Subjects characteristics</i>						
Sex (women/men)	5/14	5/14	–	5/3	5/3	–
Age (y)	41 ± 13	39 ± 14	0.64	41 ± 14	41 ± 15	1.0
Height (cm)	176 ± 9	172 ± 9	0.25	167 ± 7	168 ± 5	0.69
Body weight (kg)	74 ± 15	72 ± 13	0.65	69 ± 10	65 ± 13	0.51
BMI (kg m ⁻²)	23.8 ± 4.0	24.5 ± 3.0	0.85	24.8 ± 3.4	22.9 ± 2.9	0.26
Body fat percentage (%)	24.5 ± 8.6	23.2 ± 8.9	0.66	31.3 ± 8.7	26.2 ± 2.9	0.17
6-min walking distance (m)	464 ± 147	683 ± 96	<0.001	456 ± 96	652 ± 75	<0.001
<i>Maximal incremental cycling test</i>						
Peak workload (W)	122 ± 72	214 ± 61	<0.001	119 ± 32	184 ± 40	<0.01
VO _{2,peak} (L min ⁻¹)	1.91 ± 0.66	2.61 ± 0.65	<0.01	1.73 ± 0.38	2.21 ± 0.44	<0.05
VO _{2,peak} (ml min ⁻¹ kg ⁻¹)	26 ± 11	38 ± 9	<0.01	26 ± 6	35 ± 5	<0.01
Maximal HR (% predicted)	88 ± 10	94 ± 5	<0.05	95 ± 11	97 ± 3	0.63
[La] _{max} (mmol L ⁻¹)	7.8 ± 2.9	10.1 ± 2.4	<0.05	7.2 ± 1.6	8.9 ± 1.9	0.10

Mean values ± SD; BMI, body mass index; VO_{2,peak}, peak oxygen consumption; [La]_{max}, maximal blood lactate at exhaustion; P values, statistical results of comparisons between patients and controls.

(Balady et al., 2010) for the determination of peak workload and peak oxygen consumption. A fingertip blood sample was obtained 3 min after exhaustion and analyzed for lactate concentration (NOVA+, Nova Biomedical Corporation, Waltham MA, USA).

2.6. Quadriceps neuromuscular assessment

2.6.1. Experimental setup

Measurements were conducted on the right limb in controls and on the strongest limb in patients. Subjects lay supine on a customized chair. The knee was flexed at 90° and the hip angle was 130° to facilitate coil placement in the femoral triangle for FNMS. Voluntary strength and evoked responses to FNMS were measured with a strain gauge (SBB 200 kg Tempo Technologies, Taipei, Taiwan) connected to an inextensible ankle strap. Compensatory movement of the upper body was limited by two belts across the thorax and abdomen. Subjects were instructed to keep their hands on their abdomen at all times. Visual feedback of both the force produced and the target force levels (see below) was provided to the subjects. Quadriceps surface EMG signal was recorded from the *vastus lateralis* (as a surrogate for the whole quadriceps (Place et al., 2007)) as described in detail previously (Verges et al., 2009). EMG signals were amplified (BioAmp, ADInstruments, Sydney, Australia) with a 5 to 500-Hz filter. EMG and force signals were digitized (Powerlab, ADInstruments) at a sampling frequency of 2000 Hz and recorded (Labchart; ADInstruments).

2.6.2. Femoral Nerve Magnetic Stimulation (FNMS)

FNMS was performed with a 45-mm figure-eight coil powered by two Magstim 200 stimulators (peak magnetic field 2.5 T, stimulation duration 0.1 ms; Magstim, Whitland, United Kingdom) linked by Bistim Module (Magstim), as previously described (Verges et al., 2009). Single (twitch) and paired stimuli (10-Hz and 100-Hz doublets) were delivered at maximal stimulator output. The coil was positioned high in the femoral triangle in front of the femoral nerve. The optimal position to evoke maximal unpotentiated quadriceps peak strength and maximal *vastus lateralis* M-wave amplitude was determined and marked on the skin. After 20 min of rest, stimulus supramaximality was assessed at stimulator power outputs of 100%, 95%, 90%, 85% and 80% (see Fig. 1). FNMS was considered to be supramaximal when the unpotentiated twitch at 80% of maximal power output was greater or equal to 90% of unpotentiated twitch amplitude at 100% of maximal power output. Ninety percent (=100–10%) was used because 10% represents twice the twitch variability in a healthy population (Bachasson et al., 2013a). Supramaximal stimulation is necessary

to avoid the confounding effect of nerve hyperpolarization induced by muscle fatigue (Millet et al., 2012).

2.6.3. QJF test

Before starting the initial neuromuscular assessment, subjects performed ten 5-s submaximal isometric quadriceps contractions in order to warm up the quadriceps muscle and to familiarize themselves with both visual feedback and soundtrack instructions (see below). Then subjects performed three MVCs with 1 min of rest between each MVC. Following these MVC, subjects performed four submaximal contractions at 20%, 40%, 60% and 80% of MVC, each with a 100 Hz doublet delivered during contraction in order to evaluate the strength-activation relationship (See Fig. 2). Then the baseline neuromuscular assessment was performed. It consisted of a 5-s MVC superimposed with 100-Hz doublet followed 2 s later (i.e. in relaxed muscle) by two potentiated doublets at 100-Hz (Db₁₀₀) and 10-Hz (Db₁₀) delivered 4 s apart. Fifteen seconds later the subject performed a second MVC followed after 2 s by one potentiated single twitch (Tw_p). During all MVCs, subjects were vigorously encouraged by the experimenter. Potentiated (Kufel et al., 2002) evoked high- and low-frequency paired stimuli allow assessment of both high- and low-frequency peripheral fatigue (Verges et al., 2009) and high-frequency superimposed stimuli provide optimal resolution for central activation assessment (Place et al., 2007).

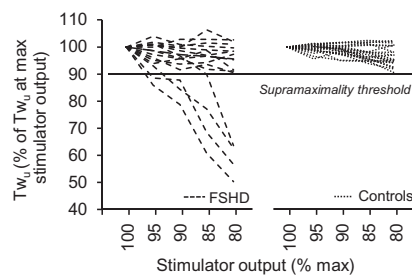


Fig. 1. Unpotentiated twitch amplitude (Tw₀) at different stimulator outputs in patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD) and controls. Supramaximal threshold corresponding to twice the Tw₀ coefficient of variation is provided. All subjects with Tw₀ amplitude below this threshold at 80% of maximal stimulator output were excluded from evoked response analysis.

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

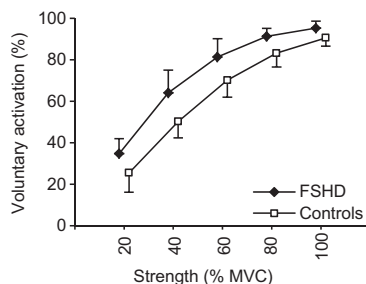


Fig. 2. Voluntary activation at 20, 40, 60, 80 and 100% of maximal voluntary contraction (MVC) in patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD) and healthy controls ($n = 13$ in both groups).

After baseline assessment, sets of 10 intermittent (5-s on/5-s off) isometric contractions at submaximal target forces were performed, starting at 10% MVC for the first set and increasing by 10% MVC each set until task failure. Subjects had visual feedback of the target force level and listened to a soundtrack indicating the contraction-relaxation rhythm. The range used for the target force level was defined as $\pm 2.5\%$ of MVC. Task failure was defined as two consecutive contractions below the target force level for more than 2.5 s. Five seconds after the end of each 10-contraction set and at exhaustion, neuromuscular assessments similar to baseline assessments were performed. In FSHD patients, serum creatine kinase was measured before and 24 h after the test.

2.7. Data analysis

The following parameters were calculated from the mechanical responses to FNMS: peak force for unpotentiated twitch, Tw_p , Db_{100} , Db_{10} and the ratio $Db_{10}:Db_{100}$ as an index of low frequency peripheral fatigue) to characterize peripheral mechanisms of neuromuscular function and peak force during superimposed Db_{100} to calculate voluntary activation (characterizing central mechanisms of the neuromuscular function). Peak-to-peak M-wave amplitude, area and latency (from FNMS to first M-wave peak) were calculated from Tw_p to assess possible alterations of action potential propagation (Dimitrova and Dimitrov, 2003). Maximal rates of force development and relaxation and the mechanical latency between FNMS and the beginning of the quadriceps mechanical response were calculated from Tw_p to provide further insights into muscle contractility and action potential propagation. Maximal voluntary activation (VA) during MVC was calculated as follows:

$$VA = [1 - \text{Superimposed } Db_{100}/Db_{100}] \times 100$$

A correction was applied to the original equation when the superimposed stimulation was administered before or after the maximal MVC force (Strojnik and Komi, 1998). The same equation was used in order to assess voluntary activation at submaximal force levels (Fig. 2). The root mean squared calculated from *vastus lateralis* EMG signal normalized to M-wave amplitude during MVC ($MVC_{RMS/M}$) was also calculated as another index of central activation (Millet et al., 2012). The following parameters were calculated from submaximal contractions: total number of contractions (*i.e.* endurance index) and force-time integral.

2.8. Statistical analysis

All variables are reported as mean \pm standard deviation. Normal distribution and homogeneity of variance analysis were confirmed

using the Kolmogorov–Smirnov and Skewness test, respectively. Unpaired *t*-tests were conducted to compare patients and controls for the following variables: subject characteristics, questionnaire scores and neuromuscular function at baseline. To compare changes in variables during the QIF test and differences between groups, we used two-way repeated measures ANOVAs (time \times group) and *t*-tests with Bonferroni correction for *post hoc* analysis. Pearson's correlations were used to determine relationships between variables. To assess reliability of neuromuscular measurements, we calculated change in the mean values of both sessions with 95% confidence intervals and used paired *t*-tests for detection of systematic bias (Atkinson and Nevill, 1998). Due to our sample size, we used typical error expressed as a coefficient of variation (CV_{TE}) to study absolute reliability (Hopkins, 2000). Relative reliability was assessed by intraclass correlation coefficient (ICC) with 95% confidence intervals of variation (Hopkins, 2002). ICCs were not calculated for VA due to the ceiling effect associated with these measurements (Clark et al., 2007; Place et al., 2007). The alpha level was set at 0.05 for all tests. All other statistical analyses were performed with a statistical software package (NCSS, Kaysville, Utah USA).

3. Results

3.1. Functional capacities and questionnaires

Data from maximal incremental cycling test are shown in Table 1. During the maximal incremental cycling test, FSHD and CMT patients had lower maximal workload and peak oxygen consumption than controls. Maximal heart rate as a percentage of maximal theoretical value and blood lactate concentration were significantly lower in FSHD patients only compared to controls. 6-min walking distance was also reduced in patients. Scores of fatigue severity scale and SF-36 questionnaires are shown in Table 2. Eleven FSHD patients and five CMT patients reported significant experienced fatigue (*i.e.* >36 , (Amato et al., 2001)).

3.2. FNMS supramaximality

FNMS supramaximality data for FSHD patients and all controls are shown in Fig. 1. FNMS was well-tolerated and no adverse effects were reported. In two FSHD patients, we were unable to obtain M-wave or mechanical responses. FNMS supramaximality was not confirmed in four other FSHD patients. These six patients were excluded from further analysis involving FNMS responses. In all other FSHD patients and controls, supramaximal stimulation was achieved and therefore, FNMS data were analyzed in thirteen patients compared to thirteen patient controls. In CMT patients, no reproducible or supramaximal M-wave or mechanical responses could be obtained. Consequently, FNMS data of CMT patients

Table 2

Fatigue severity scale and quality of life in patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD) and Charcot-Marie-Tooth disease (CMT).

	FSHD ($n = 19$)	CMT ($n = 8$)
Fatigue severity scale	38 \pm 12	41 \pm 7
SF-36 subscores		
Role physical	69 \pm 37	66 \pm 20
Physical functioning	63 \pm 28	66 \pm 20
Bodily pain	62 \pm 26	62 \pm 26
Role emotional	80 \pm 40	96 \pm 12
Social functioning	69 \pm 31	66 \pm 21
Mental health	52 \pm 23	60 \pm 17
Vitality (Energy/Fatigue)	50 \pm 23	54 \pm 6
General health perception	51 \pm 18	52 \pm 23

Mean values \pm SD; SF-36, Medical Outcomes Study Short-Form.

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

Table 3
Quadriceps function at baseline in patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD) and controls.

	FSHD	Controls	P values
Estimated quadriceps volume (cm ³)	755 ± 156	867 ± 171	<0.05
Voluntary strength (n = 19)			
MVC (Nm)	114 ± 46	207 ± 68	<0.001
MVC/Estimated quadriceps volume (Nm cm ⁻³)	0.14 ± 0.05	0.25 ± 0.07	<0.001
Evoked responses (n = 13)			
Potentiated single twitch			
Tw _p (Nm)	35 ± 16	61 ± 15	<0.001
Tw _p /Estimated quadriceps volume (Nm cm ⁻³)	0.038 ± 0.018	0.073 ± 0.016	<0.001
Tw _p contraction time (ms)	72 ± 20	71 ± 11	0.96
Tw _p latency (ms)	24 ± 3	23 ± 2	0.57
Tw _p MRFD (Nm s ⁻¹)	351 ± 220	619 ± 210	<0.001
Tw _p MRFR (Nm s ⁻¹)	-106 ± 59	-203 ± 82	<0.001
M-wave amplitude (mV)	9.3 ± 4.9	8.3 ± 3.7	0.57
M-wave area (mV ms)	0.084 ± 0.044	0.088 ± 0.029	0.85
M-wave latency (ms)	14.5 ± 1.9	13.8 ± 2.9	0.52
Potentiated doublets			
Db ₁₀₀ (Nm)	53 ± 25	92 ± 26	<0.001
Db ₁₀ (Nm)	45 ± 23	87 ± 24	<0.001
Db _{10:100}	0.85 ± 0.14	0.94 ± 0.06	<0.05
Central parameters (n = 13)			
VA (%)	95.6 ± 3.5	90.6 ± 4.0	<0.05
MVC _{RMS/M}	0.045 ± 0.020	0.048 ± 0.017	0.71

Mean values ± SD; MVC = maximum voluntary contraction; Db₁₀₀ = peak potentiated 100 Hz doublet; Tw_p = peak potentiated single twitch; MRFD = maximal rate of force development; MRFR = maximal rate of force relaxation; Db_{10:100} = ratio of the peak potentiated 10 Hz doublets/peak potentiated 100 Hz doublets; VA = voluntary activation level; MVC_{RMS/M} = root mean squared calculated from vastus lateralis EMG signal normalized to M-wave amplitude during MVC.

Table 4
Quadriceps function at baseline in patients with Charcot-Marie-Tooth disease (CMT).

	CMT (n = 8)	Controls (n = 8)	P values
Estimated quadriceps volume (cm ³)	731 ± 140	770 ± 197	0.66
Voluntary strength			
MVC (Nm)	94 ± 34	149 ± 40	<0.05
MVC/Estimated quadriceps volume (Nm cm ³)	0.13 ± 0.04	0.20 ± 0.04	<0.05

Mean values ± SD; See Table 3 for abbreviations.

during the quadriceps test were not analyzed and only mechanical and EMG data during voluntary maneuvers were compared between the eight CMT patients and eight patient controls.

3.3. Quadriceps assessments at baseline

Quadriceps neuromuscular characteristics at baseline in FSHD patients and controls are shown in Table 3. Volitional and evoked strength, both as absolute values and normalized to estimated quadriceps volume, were significantly lower in FSHD patients compared to controls. Higher Tw_p maximal rates of force development and relaxation were observed in controls compared to FSHD patients but these differences disappeared when normalized to the Tw_p amplitude (normalized maximal rate of force development, $P = 0.56$; normalized maximal rate of force relaxation, $P = 0.22$). FSHD patients showed significantly lower Db_{10:100} than controls. M-wave amplitude and area were similar in patients compared to controls. No differences in M-wave and mechanical latencies were found between FSHD patients and controls. Concerning

central parameters, FSHD patients had significantly higher VA and similar MVC_{RMS/M} compared to controls. The strength-activation relationship also indicated a tendency for greater voluntary activation at 20%, 40%, 60% and 80% of MVC in FSHD patients compared to controls ($P = 0.06$; Fig. 2). In FSHD patients, significant correlations were found between MVC (in Nm) and VA ($r = -0.41$; $P < 0.05$). Also, MVC per kg of body weight was correlated with 6-min walking distance ($r = 0.77$; $P < 0.001$), peak oxygen consumption per kg of body weight ($r = 0.74$; $P < 0.001$), maximal workload during the cycling test ($r = 0.82$; $P < 0.001$), fatigue severity scale score ($r = -0.65$; $P < 0.05$) and the physical functioning SF-36 subscore ($r = 0.58$; $P < 0.01$).

In CMT patients, volitional and evoked strength, both as absolute values and normalized to estimated quadriceps volume, were significantly lower compared to controls (see Table 4). MVC per kg of body weight correlated with peak oxygen consumption per kg of body weight ($r = 0.71$; $P < 0.05$).

3.4. Quadriceps endurance and fatigue

During the QIF test, the total number of submaximal contractions tended to be smaller in patients compared to controls (FSHD 55 ± 8 versus 60 ± 9, respectively, $P = 0.06$; CMT 53 ± 6 versus 58 ± 9, $P = 0.13$). Compared to controls, the ratio of the force reached on the last submaximal contraction and the first following MVC at exhaustion was significantly lower in FSHD patients (0.89 ± 0.06 versus 0.96 ± 0.11; $P < 0.05$) and was similar in CMT patients (0.88 ± 0.11 versus 0.90 ± 0.07; $P = 0.64$).

Changes in MVC in FSHD patients and controls are shown in Fig. 3. Changes in Tw_p, Db₁₀₀, Db_{10:100} and VA are shown in Fig. 4. No significant differences were found between groups for these variables (all $P > 0.05$). No significant changes over time or between groups were found for MVC_{RMS/M}, M-wave amplitude, area and latency or mechanical latency (all $P > 0.05$, data not shown). Change in MVC during the quadriceps fatigue test in CMT patients and controls are shown in Fig. 3. No significant difference between groups was observed ($P = 0.18$).

3.5. Reliability of quadriceps neuromuscular assessments in patients

3.5.1. Endurance and muscular work

Mean number of submaximal contractions was similar in test and re-test sessions for FSHD (54 ± 5 versus 56 ± 6; $P = 0.17$) and CMT patients (53 ± 5 versus 52 ± 5 in CMT patients; $P = 0.60$). CV_{TE} was 4.4% and ICC 0.95 (95% CI: 0.56–0.95) in FSHD patients. In CMT patients, CV_{TE} was 4.5% and ICC 0.87 (95% CI: 0.60–0.97). Total force–time product was similar between sessions in FSHD patients (10178 ± 4752 versus 10595 ± 4660 Nm s; $P = 0.14$) and in CMT patients (8356 ± 2430 versus 8176 ± 2010 Nm s; $P = 0.60$).

3.5.2. Neuromuscular assessments

Among the twelve FSHD patients that performed a test–retest, 2 had unsatisfactory FNMS supramaximality and were excluded from analysis involving evoked muscle responses. The reliability of volitional and evoked quadriceps strength at baseline and set 50% are shown in Table 5. No significant differences were observed between test and re-test sessions for any parameters. Serum creatine kinase in FSHD patients was not significantly increased 24 h after the quadriceps test (284 ± 136 versus 326 ± 140 IU l⁻¹; $P = 0.48$). The reliability of volitional strength at baseline and set 50% in CMT patients is shown in Table 6. No significant differences were observed between test and re-test.

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

4. Discussion

Our results show that the present test involving incremental isometric intermittent loading and FNMS appears to be safe, feasible and reliable to assess quadriceps strength, fatigue and endurance in patients with FSHD. Supramaximal FNMS was however not achieved in ~30% of FSHD patients. Valid quadriceps mechanical responses evoked by FNMS could not be obtained in CMT patients but fatigue and endurance assessments using volitional manoeuvres appear to be reliable. Contrary to our hypothesis, we observed similar peripheral and central fatigability in patients compared to controls. Quadriceps weakness correlated with functional capacities and perceived fatigue in patients but quadriceps fatigability did not.

4.1. Feasibility and reliability of FNMS and the QIF test in patients

4.1.1. FNMS supramaximality

Supramaximal stimulation was obtained in 68% of FSHD patients and 100% of controls. In two male FSHD patients, we were unable to obtain a distinguishable M-wave or evoked response. One of these patients had the second highest percentage body fat amongst patients (34%) and the other had 24% body fat. Among the four patients (one woman and three men) with unsatisfactory supramaximality (see Fig. 1), mean body fat percentage was $31 \pm 2\%$. Increased distance between the coil and the femoral nerve caused by subcutaneous fat interposition can lead to submaximal stimulation as previously reported by our group (Tomazin et al., 2011) and may explain, at least in part, the inability to reach supramaximal FNMS in these patients. We were unable to obtain supramaximal stimulation in any CMT patient, even those with low body fat percentage. Altered nerve excitability properties (e.g. higher resting excitability threshold, threshold electrotonus abnormalities) previously reported in CMT disease (Meulstee et al., 1997; Nodera et al., 2004) might partly explain these results but further research is needed to clarify the mechanisms involved. As previously done in healthy subjects (Verges et al., 2009), comparison of electrical and magnetic femoral nerve stimulation in neuromuscular patients could also be useful to better characterize advantages and limits of FNMS, in particular in neurogenic patients.

4.1.2. Feasibility and reliability

Our fatiguing protocol appeared to be safe since serum creatine kinase concentrations before and 24 h after the test were similar and since evoked and volitional strengths were similar between test and re-test sessions in FSHD patients. FNMS was well-tolerated

in patients as previously reported in other pathological conditions (e.g. in COPD (Polkey et al., 1996), chronic heart failure (Hopkinson et al., 2012), fibromyalgia syndrome (Bachasson et al., 2013b)). Reliability of MVC and evoked muscular responses at baseline were satisfactory ($CV_{TE} < 7\%$ and $ICC > 0.82$). MVC and Tw_p reliability was similar to the between-day reliability previously observed in COPD patients (Saey et al., 2003). Percentage reductions in MVC and evoked muscular responses during the QIF test appeared to be similar between the test and re-test sessions. At set 50%, CV_{TE} were $< 10\%$ and ICC were > 0.85 for both MVC and evoked muscular responses. For VA, CV_{TE} was $< 5\%$ at baseline and at set 50% but relative reliability was lower as shown by large limits of agreement at baseline, influenced by one outlier that showed a large VA reduction in the second session (-21%). These results are in accordance with previous results showing relatively large VA variability in healthy subjects (Morton et al., 2005; Place et al., 2007) and in patients with neuromuscular disorders (Horemans et al., 2004). $MVC_{RMS/M}$ was less reliable than VA as previously observed (Place et al., 2007). Muscle endurance assessed with the total number of submaximal contraction was reliable ($CV_{TE} < 5\%$ and $ICC > 0.95$). Together, these results indicate that the reliability of neuromuscular assessments in FSHD patients is good and suitable for follow-up or interventional studies. MVC measurements before (Solari et al., 2008) and during the QIF test are suitable to evaluate strength and fatigability in patients with CMT.

4.2. Quadriceps properties at baseline in patients versus controls

4.2.1. Voluntary strength and evoked responses

As expected, FSHD patients had lower MVC and evoked muscular responses compared to controls (-45%). When normalized to estimated quadriceps volume, MVC and evoked muscular responses remained lower in patients. This result may reflect fibrosis and lipid infiltration usually observed in dystrophic muscle (Friedman et al., 2012). Also, changes in myocyte ultrastructure (e.g. atrophic myotubes) (Barro et al., 2010) and the loss of tendon-fiber continuity during muscle fiber necrosis and regeneration (Goldstein and McNally, 2010) may contribute to the impaired strength–volume relationship in FSHD patients. More accurate measurements of muscle volume and structure with magnetic resonance imaging (Kan et al., 2009) are needed to confirm that strength production per unit of muscle volume is reduced in FSHD patients. Lower $Db_{10:100}$ may indicate that the force–frequency relationship in dystrophic muscle is influenced by factors such as macroscopic and microscopic muscle abnormalities mentioned

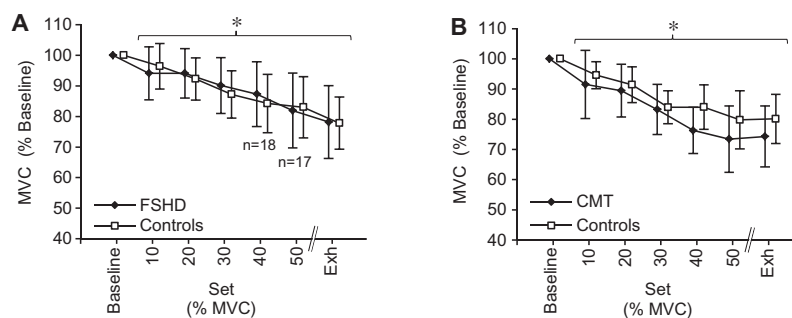


Fig. 3. Maximal voluntary strength (MVC) during the quadriceps fatigue test in patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD, $n = 19$, Panel A) and Charcot-Marie-Tooth disease (CMT, $n = 8$, Panel B) compared to healthy controls. Baseline, initial measurement; 10–50, measurements after sets of 10 contractions at 10–50% of MVC; Exh, measurement immediately after exhaustion; *significantly different from baseline ($P < 0.05$).

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

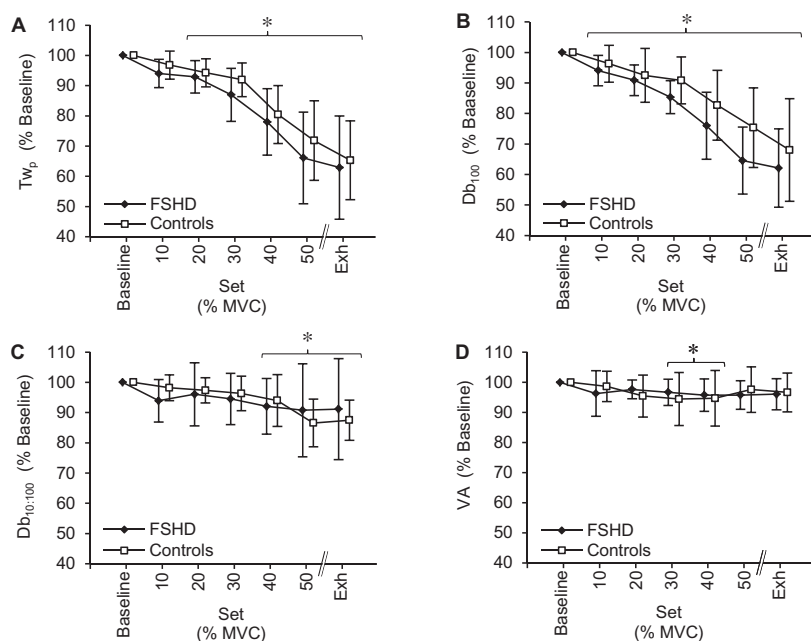


Fig. 4. Potentiated twitch (Tw_p , Panel A) and potentiated 100-Hz doublet (Db_{100} , Panel B) amplitudes evoked via magnetic femoral nerve stimulation, ratio of potentiated 10-Hz on potentiated 100-Hz doublets ($Db_{10:100}$, Panel C) and voluntary action (VA, Panel D) during the quadriceps fatigue test in patients with fascioscapulohumeral dystrophy (FSHD) and healthy controls ($n = 13$ in both groups). See Fig. 3 for abbreviations. *significantly different from baseline ($P < 0.05$).

above (Barro et al., 2010; Friedman et al., 2012; Goldstein and McNally, 2010). Conversely, similar M-wave characteristics indicate that nerve conduction and action potential propagation are preserved in FSHD patients. In CMT patients, MVC was significantly reduced compared to controls (-37%) in line with previous reports (Schillings et al., 2007). In CMT, proximal leg compartments usually display less atrophy and fatty infiltration than distal compartments (Gallardo et al., 2006). Estimated quadriceps volume was not significantly reduced in CMT patients and therefore MVC normalized to estimated quadriceps volume was lower compared to controls. As discussed above, accurate measurements of muscle volume are needed and, in the absence of VA measurements, we are unable to discriminate between central and peripheral factors responsible for this weakness in CMT.

4.2.2. Central parameters

One unexpected result was the higher VA at baseline in FSHD patients compared to controls. In both groups, mean VA was $>90\%$ which is within the range usually observed in healthy human quadriceps (O'Brien et al., 2008; Place et al., 2007). A tendency for higher activation level at submaximal fraction of MVC was also found in FSHD patients (see Fig. 2). Similar $MVC_{RMS/EM}$ in patients and controls do not support a difference in central activation between groups but this parameter may be insufficiently reliable to detect small changes (Place et al., 2007). Higher VA in FSHD patients contrasts with the previous work of Schillings et al. (2007) reporting large activation failure in biceps brachii of FSHD patients. This discrepancy might be partly explained by the use of different stimulation procedures (e.g. muscle electrical train stimulation versus FNMS) and differences in muscle groups. On the other hand, normal activation has also been reported in other neuromuscular

disease such as post-polio syndrome (Allen et al., 1997). Schillings et al. (2007) suggested that lower voluntary activation in patients might reflect a protective mechanism to prevent muscle from further damage. Previous findings however showed that intracortical inhibition assessed with transcranial magnetic stimulation might be reduced in FSHD and may reflect a compensatory phenomenon of the central nervous system to overcome peripheral muscle weakness (Di Lazzaro et al., 2004). This mechanism might underlie the enhanced VA observed in FSHD in the present work although the relationship between central inhibition/excitability and the level of activation assessed at the peripheral level is still to be clarified (Gruet et al., 2013). Furthermore, the weakest FSHD patients may be accustomed to recruiting a greater percentage of their maximal muscle capacity in daily activities, thus accounting for the inverse correlation between quadriceps strength and VA.

4.3. Quadriceps fatigability and endurance in patients versus controls

4.3.1. MVC, peripheral fatigability and endurance

Our results showed similar reductions in MVC and evoked muscular responses in FSHD patients and controls during a standardized fatigue protocol at identical relative intensities (i.e. identical % of MVC). Reductions in $Db_{10:100}$ were also similar indicating that the amount of low-frequency fatigue was comparable in both groups. M-wave characteristics did not change during the test meaning that impairment of action potential propagation is not involved in the fatigue induced by this protocol in either FSHD patients or controls. These results contrast with the study of Schillings et al. (2007), which reported smaller reductions in MVC and evoked muscular responses in patients after a 2-min sustained MVC compared to controls. In this study, central activation

Table 5

Between-day reliability values for volitional ($n = 12$), evoked quadriceps strength and central parameters ($n = 10$) at baseline and at set 50% in patients with fascioscapulo-humeral dystrophy.

	Change in mean (95 % CI)	CV _{TE} (95% CI)	ICC (95 % CI)
<i>Baseline</i>			
MVC (Nm)	-0.8 (-3.2-1.5)	2.3 (1.6-3.9)	0.99 (0.99-0.99)
Tw _p (Nm)	-0.6 (-3.6-2.5)	7.7 (5.2-14.8)	0.98 (0.94-0.99)
Db ₁₀₀ (Nm)	1.1 (-2.1-4.3)	5.3 (3.6-10.1)	0.99 (0.97-0.99)
Db _{10:100}	-0.05 (-0.11-0.01)	6.4 (4.3-12.3)	0.82 (0.40-0.96)
VA (%)	-1.9 (-6.4-3.1)	4.6 (3.3-9.5)	/
MVC _{RMS/M}	0.004 (-0.008-0.015)	16 (10.7-26.0)	0.79 (0.49-0.96)
<i>Set 50%</i>			
MVC (% Pre)	-1.6 (-8.2-5.0)	6.0 (3.9-13.3)	0.99 (0.92-0.99)
Tw _p (% Pre)	-1.6 (-8.0-4.7)	9.3 (6.3-17.7)	0.88 (0.57-0.97)
Db ₁₀₀ (% Pre)	0.1 (-7.7-7.9)	9.9 (6.7-19.0)	0.85 (0.48-0.96)
Db _{10:100}	-0.09 (-0.16-0.02)	7.1 (4.7-14.4)	0.92 (0.66-0.98)
VA (%)	-1.23 (-8.0-5.5)	6.9 (4.6-13.1)	/
MVC _{RMS/M}	0.000 (-0.004-0.004)	7.9 (5.2-16.0)	0.91 (0.62-0.98)

95% CI, 95% Confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient; CV_{TE}, typical error expressed as a coefficient of variation; MVC = maximum voluntary contraction; Db₁₀₀ = peak potentiated 100 Hz doublet; Tw_p = peak potentiated single twitch; Db_{10:100} = ratio of the peak potentiated doublets at 10 over 100 Hz; VA = voluntary activation level; MVC_{RMS/M} = root mean squared calculated from vastus lateralis EMG signal normalized to M-wave amplitude during MVC.

Table 6

Between-day reliability values for volitional quadriceps strength at baseline and at set 50% in patients with Charcot-Marie-Tooth disease ($n = 8$).

	Change in mean (95 % CI)	CV _{TE} (95% CI)	ICC (95 % CI)
<i>Baseline</i>			
MVC (Nm)	-1.5 (-8.4-5.7)	5.8 (3.8-9.7)	0.98 (0.94-0.99)
<i>Set 50%</i>			
MVC (% Pre)	-0.6 (-2.9-1.8)	3.0 (2.1-3.8)	0.94 (0.82-0.98)

Mean values \pm SD; See Table 4 for abbreviations.

in patients was greatly impaired and therefore lower muscle recruitment may have induced less fatigue. Our results also contrast with the work of Schulte-Mattler et al. (2003), who showed increased contractile fatigue in dorsiflexors induced by intermittent electrical neurostimulation in FSHD patients. However, these results are difficult to compare with the present study because the group of patients studied was particularly heterogeneous involving various neurogenic and myopathic diseases (e.g. only four patients with FSHD). FSHD patients showed a tendency to have reduced muscle endurance ($P = 0.06$) as measured by the total number of submaximal contractions. Turki et al. (2012) recently reported increased oxidative stress and impaired mitochondrial function in fifteen patients with FSHD compared to a group of healthy controls. The authors reported that both quadriceps volitional strength and endurance (i.e. time to exhaustion during dynamic contractions at 30% of MVC) correlate with these abnormalities. Although quadriceps endurance was much shorter in FSHD, time to exhaustion was highly variable in both groups (384 ± 353 s in patients versus 603 ± 357 s in controls). Furthermore, the amount of fatigue induced was not measured. Since peripheral fatigue kinetics were similar in FSHD patients and controls in the present study, the tendency to lower endurance in

FSHD patients may be explained, in part, by the significantly lower ratio of the force reached during the last submaximal contraction and the first following MVC at exhaustion in patients, indicating slightly submaximal effort. Lack of motivation, fear of pain and muscle damage frequently observed in patients may also contribute to earlier task-failure in patients. The discrepancy between our results and Turki et al. (2012) might partly rely on the type of contraction since dystrophic muscle might be more sensitive to muscle damage than healthy muscle during dynamic contractions (Dellorusso et al., 2001). In CMT patients, our result showed similar reduction in MVC during the QIF test and non-significant difference in terms of endurance. In previous studies exploring quadriceps, similar observations have been made (Lindeman et al., 1999; Menotti et al., 2012; Schillings et al., 2007) but these results are difficult to compare because sustained maximal or submaximal contractions were used rather than intermittent submaximal contractions as in the present work. As discussed above, measurements of fatigue using maximal force alone do not discriminate between peripheral and central factors so we cannot distinguish peripheral and central (i.e. spinal and supraspinal but also at the peripheral nerve trunk level) factors responsible for MVC reduction in CMT patients. We recently showed that MVCs are not able to detect small differences in muscle fatigue between patients and controls and that evoked responses are more sensitive (Bachasson et al., 2013b). At last, we cannot exclude lack of statistical power to detect differences between CMT and controls.

4.3.2. Central fatigability

Since no significant differences were observed in either VA or MVC_{RMS/M} during the quadriceps fatigue test, central fatigue appeared to be similar in FSHD patients and controls in accordance with the previous work of Schillings et al. (2007). Thus, central activation impairments during a fatiguing task (sustained or intermittent) do not seem to be a limiting factor in FSHD patients. As previously mentioned, we cannot address the issue of central fatigability in CMT patients without VA assessment.

4.4. Relation between quadriceps function, functional capacities and subjective fatigue in patients

Impaired exercise capacity during stationary cycling (in all patients) and 6-min walking distance (in FSHD patients only) appeared to be related to quadriceps weakness rather than muscle endurance or fatigue in line with previous findings (Alfano et al., 2013). This weakness also seemed to impact negatively on physical functioning (SF-36 subscore) and perceived fatigue (fatigue severity scale score) in FSHD patients. In the present study, FSHD patients and controls performed the quadriceps fatigue test at the same relative intensity (i.e. at the same % of MVC). Patients probably have to work at a higher percentage of MVC compared to healthy subjects due to significant muscle weakness during spontaneous activity. Therefore, they may develop larger amounts of fatigue in their daily lives. This may explain, in part, why neither central nor peripheral fatigue as assessed in the present study (i.e. for the same relative workload) were related to impaired functional capacities, physical functioning or subjective fatigue in FSHD patients.

5. Conclusions

We showed that FNMS is feasible and reliable in ~70% of FSHD patients to assess central and peripheral neuromuscular function at rest and during an isolated quadriceps fatiguing task. In CMT patients, FNMS showed a lack of power to achieve optimal stimulation. Meanwhile, the QIF test appears to be safe and reliable to

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. Clin Neurophysiol (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

assess global fatigue and endurance with volitional measurements in this population. Development of magnetic stimulation devices is required to extend its applicability to all patients. Additional studies are needed to evaluate the feasibility and the relevance of the QIF test in other neuromuscular diseases involving different pathophysiological mechanisms (e.g. metabolic myopathies, amyotrophic lateral sclerosis). We reported significant muscle weakness and similar peripheral and central fatigability during intermittent isometric contractions at identical relative force levels in FSHD patients compared to controls. Impairment of functional and subjective physical capacities and experienced fatigue in patients seems to be related to muscle weakness rather than enhanced muscle fatigability or reduced endurance. Further studies must be conducted to assess neuromuscular fatigue induced by functional exercise unrelated to individual MVC (e.g. walking, sit-to-stand transfer) in order to clarify the impact of neuromuscular fatigue on patients' daily living activities.

Acknowledgements

We thank the French Association for Muscle Dystrophy for financial support. DB received a Ph.D. fellowship from the French Association for Muscle Dystrophy (AFM). JT was supported by a doctoral research grant from the Rhône-Alpes Region. The Direction de la Recherche Clinique et l'Innovation (DRCI) of the CHU de Grenoble was the promoter of this work.

References

- Aaronson NK, Acquadro C, Alonso J, Apolone G, Bucquet D, Bullinger M, et al. International quality of life assessment (IQOLA) project. *Qual Life Res* 1992;1:349–51.
- Alfano LN, Lowes LP, Flanigan KM, Mendell JR. Correlation of knee strength to functional outcomes in becker muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2013;47:550–4.
- Allen GM, Gandevia AS, Middleton J. Quantitative assessments of elbow flexor muscle performance using twitch interpolation in post-polio patients: no evidence for deterioration. *Brain* 1997;120:663–72.
- Amato MP, Ponziani G, Rossi F, Liedl CL, Stefanile C, Rossi L. Quality of life in multiple sclerosis: the impact of depression, fatigue and disability. *Mult Scler* 2001;7:340–4.
- Angelini C, Tasca E. Fatigue in muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2012;22:S214–20.
- Atkinson G, Nevill AM. Statistical methods for assessing measurement error (reliability) in variables relevant to sports medicine. *Sports Med* 1998;26:217–38.
- Bachasson D, Millet GY, Decorte N, Wuyam B, Levy P, Verges S. Quadriceps function assessment using an incremental test and magnetic neurostimulation: a reliability study. *J Electromyogr Kinesiol* 2013a;23:649–58.
- Bachasson D, Guinot M, Wuyam B, Favre-Juvin A, Millet GY, Levy P, et al. Neuromuscular fatigue and exercise capacity in fibromyalgia syndrome. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013b;65:432–40.
- Balady GJ, Arena R, Sietsema K, Myers J, Coke L, Fletcher GF, et al. Clinician's Guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: a scientific statement from the American heart association. *Circulation* 2010;122:191–225.
- Barro M, Carnac G, Flavier S, Mercier J, Vassetzky Y, Laoudj-Chenivresse D. Myoblasts from affected and non-affected FSHD muscles exhibit morphological differentiation defects. *J Cell Mol Med* 2010;14:275–89.
- Bigland-Ritchie B, Jones DA, Hosking GP, Edwards RH. Central and peripheral fatigue in sustained maximum voluntary contractions of human quadriceps muscle. *Clin Sci Mol Med* 1978;54:609–14.
- Chaudhuri A, Behan PO. Fatigue in neurological disorders. *Lancet* 2004;363:978–88.
- Clark BC, Cook SB, Ploutz-Snyder LL. Reliability of techniques to assess human neuromuscular function in vivo. *J Electromyogr Kinesiol* 2007;17:90–101.
- Dellorusso C, Crawford RW, Chamberlain JS, Brooks SV. Tibialis anterior muscles in mdx mice are highly susceptible to contraction-induced injury. *J Muscle Res Cell Motil* 2001;22:467–75.
- Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali PA, Felicetti L, De Marco MB, Saturno E, et al. Changes in motor cortex excitability in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2004;14:39–45.
- Dimitrova NA, Dimitrov GV. Interpretation of EMG changes with fatigue: facts, pitfalls, and fallacies. *J Electromyogr Kinesiol* 2003;13:13–36.
- Durnin JV, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974;32:77–97.
- Feasson L, Camdessanche JP, El Mandhi L, Calmels P, Millet GY. Fatigue and neuromuscular diseases. *Ann Readapt Med Phys* 2006;49:289–300 [75–84].
- Friedman SD, Poliachik SL, Carter GT, Budech CB, Bird TD, Shaw DW. The magnetic resonance imaging spectrum of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2012;45:500–6.
- Gallardo E, Garcia A, Combarros O, Berciano J. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A duplication: spectrum of clinical and magnetic resonance imaging features in leg and foot muscles. *Brain* 2006;129:426–37.
- Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev* 2001;81:1725–89.
- Goldstein JA, McNally EM. Mechanisms of muscle weakness in muscular dystrophy. *J Gen Physiol* 2010;136:29–34.
- Gruet M, Temesi J, Rupp T, Levy P, Millet GY, Verges S. Stimulation of the motor cortex and corticospinal tract to assess human muscle fatigue. *Neuroscience* 2013;231:384–99.
- Hogrel JY, Payan CA, Ollivier G, Tanant V, Attarian S, Couillandre A, et al. Development of a French isometric strength normative database for adults using quantitative muscle testing. *Arch Phys Med Rehabil* 2007;88:1289–97.
- Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Med* 2000;30:1–15.
- Hopkins WG. Reliability from consecutive pairs of trials (Excel spreadsheet). In: A new view of statistics. Internet Society of Sport Science. Available from URL: <<http://www.sportssci.org/resource/stats/xrly.xls>> 2002.
- Hopkinson NS, Dayer MJ, Antoine-Jonville S, Swallow EB, Porcher R, Vazir A, et al. Central and peripheral quadriceps fatigue in congestive heart failure. *Int J Cardiol* 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.06.064>.
- Horemans HL, Beelen A, Nollet F, Jones DA, Lankhorst GJ. Reproducibility of maximal quadriceps strength and its relationship to maximal voluntary activation in postpoliomyelitis syndrome. *Arch Phys Med Rehabil* 2004;85:1273–8.
- Jones PR, Pearson J. Anthropometric determination of leg fat and muscle plus bone volumes in young male and female adults. *J Physiol* 1969;204:6P–63P.
- Kan HE, Scheenen TW, Wohlgenuth M, Klomp DW, van Loosbroek-Wagemans I, Padberg GW, et al. Quantitative MR imaging of individual muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2009;19:357–62.
- Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 1989;46:1121–3.
- Kufel TJ, Pineda LA, Mador MJ. Comparison of potentiated and unpotentiated twitches as an index of muscle fatigue. *Muscle Nerve* 2002;25:438–44.
- Lindeman E, Spaans F, Reulen JP, Leffers P, Drukker J. Surface EMG of proximal leg muscles in neuromuscular patients and in healthy controls. Relations to force and fatigue. *J Electromyogr Kinesiol* 1999;9:299–307.
- Menotti F, Bazzucchi I, Felici F, Damiani A, Gori MC, Macaluso A. Neuromuscular function after muscle fatigue in Charcot-Marie-Tooth type 1A patients. *Muscle Nerve* 2012;46:434–9.
- Meulstee J, Darbas A, van Doorn PA, van Briemen L, van der Meche FG. Decreased electrical excitability of peripheral nerves in demyelinating polyneuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;62:398–400.
- Millet GY, Bachasson D, Temesi J, Wuyam B, Feasson L, Verges S, et al. Potential interests and limits of magnetic and electrical stimulation techniques to assess neuromuscular fatigue. *Neuromuscul Disord* 2012;22:S181–6.
- Morton JP, Atkinson G, MacLaren DP, Cable NT, Gilbert G, Broome C, et al. Reliability of maximal muscle force and voluntary activation as markers of exercise-induced muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 2005;94:541–8.
- Nodera H, Bostock H, Kuwabara S, Sakamoto T, Asanuma K, Jia-Ying S, et al. Nerve excitability properties in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Brain* 2004;127:203–11.
- O'Brien TD, Reeves ND, Baltzopoulos V, Jones DA, Maganaris CN. Assessment of voluntary muscle activation using magnetic stimulation. *Eur J Appl Physiol* 2008;104:49–55.
- Place N, Maffioletti NA, Martin A, Lepers R. Assessment of the reliability of central and peripheral fatigue after sustained maximal voluntary contraction of the quadriceps muscle. *Muscle Nerve* 2007;35:486–95.
- Polkey MI, Kyroussis D, Hamnegard CH, Mills GH, Green M, Moxham J. Quadriceps strength and fatigue assessed by magnetic stimulation of the femoral nerve in man. *Muscle Nerve* 1996;19:549–55.
- Saey D, Debigare R, LeBlanc P, Mador MJ, Cote CH, Jobin J, et al. Contractile leg fatigue after cycle exercise: a factor limiting exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:425–30.
- Schillings ML, Kalkman JS, Janssen HM, van Engelen BG, Bleijenberg G, Zwarts MJ. Experienced and physiological fatigue in neuromuscular disorders. *Clin Neurophysiol* 2007;118:292–300.
- Schulte-Mattler WJ, Muller T, Deschauer M, Gellerich FN, Iaizzo PA, Zierz S. Increased metabolic muscle fatigue is caused by some but not all mitochondrial mutations. *Arch Neurol* 2003;60:50–8.
- Solari A, Laura M, Salsano E, Radice D, Pareyson D, Group C-TS. Reliability of clinical outcome measures in Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuromuscul Disord* 2008;18:19–26.
- Strojnik V, Komi PV. Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. *J Appl Physiol* 1998;84:344–50.

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

Szecs J, Gotz S, Pollmann W, Straube A. Force-pain relationship in functional magnetic and electrical stimulation of subjects with paresis and preserved sensation. *Clin Neurophysiol* 2010;121:1589–97.

Tomazin K, Verges S, Decorte N, Oulerich A, Maffioletti NA, Millet GY. Fat tissue alters quadriceps response to femoral nerve magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 2011;122:842–7.

Turki A, Hayot M, Carnac G, Pillard F, Passerieux E, Bommart S, et al. Functional muscle impairment in facioscapulohumeral muscular dystrophy is correlated

with oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Free Radic Biol Med* 2012;53:1068–79.

Verges S, Maffioletti NA, Kerherve H, Decorte N, Wuyam B, Millet GY. Comparison of electrical and magnetic stimulations to assess quadriceps muscle function. *J Appl Physiol* 2009;106:701–10.

Please cite this article in press as: Bachasson D et al. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2013.08.001>

**ETUDE III : THERAPIE PAR L'EXERCICE DANS LA
DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMERALE**

A. THERAPIE PAR L'EXERCICE ET FSHD

1. Justification du choix de la FSHD

La dystrophie Facioscapulohumérale est l'une des plus fréquentes myopathies, avec une prévalence d'environ 1 pour 20 000 (Tawil, 2008). Longtemps le recours à l'exercice dans cette maladie, comme dans les myopathies en général, a été compliqué en raison d'études maintenant contredites mais selon lesquelles la sur-utilisation ou la surcharge pourrait induire une faiblesse musculaire (Johnson and Braddom, 1971). Néanmoins, la lésion musculaire qui caractérise cette myopathie est classiquement plus modérée que dans d'autres dystrophies. En particulier, la relative bonne préservation de la région pelvienne explique la meilleure autonomie observée chez les patients atteints de FSHD. Ils sont capables d'avoir une vie sociale et familiale relativement classique et à l'occasion d'effectuer des activités physiques parfois assez soutenues. Toutefois, avec le temps, la faiblesse musculaire et l'intolérance à l'effort les contraignent à un style de vie plus sédentaire. Mais les limitations rencontrées par le patient dans ses activités de vie quotidienne ne relèvent pas seulement du déficit moteur à proprement dit, mais aussi de sa fatigabilité musculaire et de sa moindre résistance aux efforts répétés (Kalkman et al., 2008). Or, la faiblesse musculaire s'accroît avec le temps et l'intolérance à l'exercice s'aggrave. Les avis ont été longtemps partagés sur les causes de cette intolérance, *i.e.* une sur-utilisation accumulée au fil du temps des gestes du quotidien (Johnson and Braddom, 1971) vs un processus dystrophique évolutif aggravé par les effets cumulés du vieillissement musculaire et de l'accroissement de la sédentarité. Quelles qu'en soient les raisons, la conséquence est qu'au-delà de 50 ans, ces patients adoptent souvent un mode de vie de plus en plus sédentaire qui précipite alors leur perte d'autonomie et la dégradation de leur qualité de vie. Répondant partiellement à ces questions, différentes études ont montré l'innocuité et les effets bénéfiques de programmes d'entraînement régulier (Aitkens et al., 1993; Milner-Brown and Miller, 1988; Olsen et al., 2005; van der Kooi et al., 2004; Vignos and Watkins, 1966).

Cependant, même les plus récentes études n'ont porté que sur des périodes limitées à 12 semaines. Par ailleurs, le bénéfice est souvent tributaire d'un suivi spécialisé en centre de remise en forme et/ou d'un accompagnement par un coach sportif. Enfin, parmi les études qui comptaient des analyses du tissu musculaire (Aitkens et al., 1993; Milner-Brown and Miller, 1988; Olsen et al., 2005; van der Kooi et al., 2004; Vignos and Watkins, 1966), l'effet de l'entraînement sur la capacité de régénération des muscles sollicités n'a pas été recherché. Il

s'agit aussi de mesurer un gain de force, d'estimer l'amélioration de l'aptitude fonctionnelle et de l'autonomie, d'évaluer la résistance à l'effort mais aussi de s'assurer de la perception par le patient de la fatigue et de la douleur potentiellement engendrées ainsi que du retentissement de cette activité sur sa qualité de vie.

2. Intérêts d'une étude intégrative

Notre étude est basée sur des évaluations multifactorielles. Il s'agit d'une étude contrôlée et randomisée de 6 mois d'entraînement coaché à domicile. C'est une durée deux fois plus longue que les études longitudinales publiées. La nature de l'entraînement est également originale, car il combine entraînement aérobic (intensité modérée constante et intensité élevée) avec un entraînement en force, les deux types d'exercices étant exécutés sur le même ergocycle. Un aspect majeur de notre étude est le fait qu'il donne une vue intégrative potentielle des bénéfices fonctionnels, biologiques et de qualité de vie à long terme. Cette approche intégrée devrait permettre une meilleure compréhension des processus physiologiques et tissulaires impliqués dans cette démarche thérapeutique par l'exercice. Nous émettons ainsi l'hypothèse que notre programme d'entraînement est non seulement assez sollicitant pour induire des adaptations physiologiques escomptées, mais il est assez simple pour être inclus dans le style de vie des patients.

B. PRESENTATION DE L'ÉTUDE

La présente étude fait partie d'un projet plus large de "thérapie par l'exercice" qui se déroule en deux phases : une phase contrôlée et randomisée de 6 mois suivie d'une seconde phase de 24 mois supplémentaires d'auto-entraînement. Dans ce travail doctoral, nous présentons uniquement le déroulement et les résultats issus de l'essai initial contrôlé et randomisé sur 6 mois, assortie des données issues de l'entraînement supervisé des ex-sujets contrôles de cette phase 1 et qui auront accepté de poursuivre en phase 2 pendant 24 mois.

1. Etude contrôlée et randomisée sur 6 mois

Cette étude a débuté à la fin de l'année 2010. L'objectif de cette phase randomisée et contrôlée était d'apprécier de façon intégrée et sur 6 mois, les bénéfices fonctionnels, tissulaires et de qualité de vie d'un programme d'activités physiques modérées à domicile, supervisé et compatible avec l'activité quotidienne professionnelle, sociale et familiale de patients FSHD. L'entraînement se déroulait à domicile, sur ergocycle, à raison de 3 séances

hebdomadaires de 35 mn environ. Il sollicitait des groupes musculaires des membres inférieurs de niveau de déficience hétérogène mais dont le degré d'atteinte restait compatible avec la pratique du pédalage. Il comprenait : (i) 2 séances d'exercices aérobies d'intensité modérée à puissance constante (30 mn d'état stable à 60% MAP combinées à 5 séries de courts exercices dynamiques à forte résistance, toujours sur l'ergocycle et (ii) une séance d'intervalle training. Les patients étaient randomisés par tirage au sort et constituaient deux groupes : un groupe entraîné (TG, pour trained group) et un groupe contrôle non entraîné (CG, control group) qui maintient son activité quotidienne habituelle. En début puis en fin de période expérimentale, les deux groupes bénéficiaient de différentes évaluations (test de force maximale et de résistance à la fatigue locale, puissance aérobie, questionnaires de qualité de vie et échelles de perception de la fatigue, tests fonctionnels) et d'une biopsie du muscle vaste externe visant entre autres analyses, l'exploration de la capacité régénérative (cellules satellites et longueur des télomères). Les évaluations non invasives étaient aussi reproduites à 6, 12 et 18 semaines. Une caractérisation initiale de la trophicité et du métabolisme musculaires par imagerie par résonance magnétique (IRM) et spectro-RMN a été réalisée pour tous les patients en début d'étude au Laboratoire de RMN AIM CEA de l'Institut de Myologie à Paris.

Au terme de cet essai contrôlé–randomisé de 6 mois, une proposition a été faite aux sujets du CG de cette 1^{ère} partie de l'étude, de bénéficier aussi du même programme d'entraînement supervisé à domicile de 6 mois (figure 22). Pour ceux qui ont ainsi exprimé le désir de réaliser l'entraînement (i.e. 15 patients soit 94% d'entre eux), des évaluations périodiques sont alors envisagées tous les 2 mois. L'entraînement pour ce groupe contrôle - entraîné (CTG, pour control-trained group), repose sur les mêmes modalités des 3 séances hebdomadaires précédemment décrites.

Compte tenu de la nécessité de la réalisation simultanée de certaines analyses sur les différents prélèvements tissulaires d'un même sujet et du fait de la programmation d'une troisième et dernière biopsie à l'issue de la partie de l'étude (après 30 mois d'entraînement, 6 mois d'entraînement encadré et supervisé puis 24 mois d'auto-entraînement), les résultats présentés dans le cadre de ce travail doctoral ne pourront être que partiels dans ce domaine.

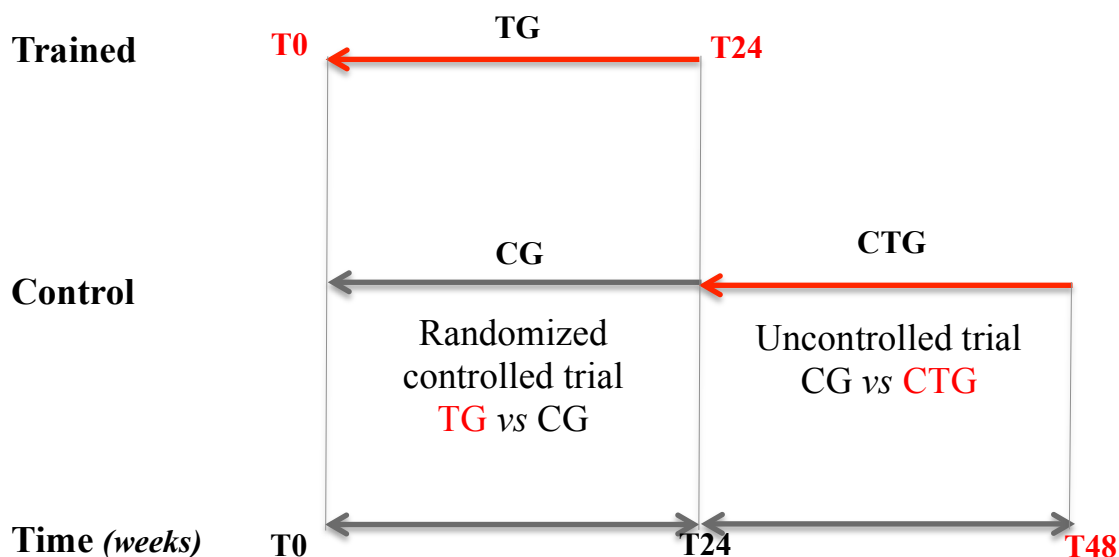


Figure 22 : Déroulement expérimental de l'étude. TG : groupe entraîné, CG : groupe contrôle et CTG : ex-groupe contrôle devenu entraîné. Le temps est exprimé en semaines. Les 24 premières semaines (T0 à T24) correspondent à l'étude contrôlée randomisée tandis que les 24 semaines suivantes (T24 à T48) correspondent à l'étude non contrôlée.

a. Objectifs de l'étude

- *Objectif principal:* Démontrer que l'instauration de l'activité physique sous forme d'un entraînement combiné aérobie et en force, supervisé et à domicile pendant 24 semaines peut aboutir à une amélioration de la fonction musculaire de patients porteurs d'une dystrophie facioscapulohumérale.
- *Objectif secondaire:* Évaluer l'observance de ce programme d'entraînement et son influence sur la qualité de vie des patients.
- Etudier les répercussions tissulaires dans le muscle vaste externe de ces patients.

b. Critères de l'étude

Critère principal: c'est l'amélioration de la fonction musculaire spécifiquement du quadriceps, par une pratique physique régulière et adaptée chez patients porteurs de FSHD. Cette évaluation de la fonction musculaire sera jugée à partir des résultats des:

- Paramètres fonctionnels métaboliques principaux : MAP; VO_2 max
- Paramètres fonctionnels associés : Distance parcourue au test de six minutes (TM-6), force lors d'une contraction maximale volontaire (MVC), pic de force lors d'une stimulation magnétique du nerf fémoral à la suite d'une MVC (Twitch muscle relâché), %AV,

performance et fatigabilité lors d'un test de contractions isométriques intermittentes réalisées jusqu'à épuisement (QIF test),

- Autres paramètres physiologiques: fréquence cardiaque (FC) maximale, lactate.

Critères secondaires:

Observance de l'entraînement consigné sur le carnet et à partir des enregistrements de FC, analyse morphométrique et de la typologie des fibres musculaires du vaste externe, évaluation de la qualité de vie des patients (score obtenu sur le Short Form 36 Health Survey questionnaire, SF-36) et perception subjective quotidienne de la douleur et de la fatigue sur échelle visuelle analogique (EVA).

2. Recrutement des patients

Il repose sur une population d'une centaine de patients atteints de la dystrophie facio-scapulo-humérale consultant régulièrement dans le Centre Référent Maladies Neuromusculaires Rares Rhône-Alpes (CR-MNMRh-A). Les patients correspondant aux critères d'inclusion ont été informés oralement de la possibilité de participer à cette étude à l'occasion d'une consultation auprès d'un médecin du Centre. Lors de la visite d'inclusion, en plus d'un examen médical, l'investigateur a vérifié que le patient répondait aux critères d'inclusion et de non-inclusion. En particulier, il vérifiait le diagnostic moléculaire, que le bilan cardio-respiratoire (EFR, échocardiographie et holter ECG) était à jour et qu'il n'existait pas de contre indication à l'exercice physique.

Dix neuf (19) sujets FSHD ont accepté d'être recrutés dans la première phase de l'étude après avoir été informés de la nature et des risques inhérents aux différentes procédures expérimentales. Après obtention du consentement signé du patient, l'investigateur a appelé le centre de randomisation pour définir dans quel groupe entraîné ou contrôle le patient est inclus (figure 23).

Critères d'inclusion

- Etre âgé de plus de 18 ans.
- Consentement éclairé et signé obtenu.
- Etre capable de soutenir un exercice sur cycloergomètre.
- Sujet affilié ou ayant droit d'un régime de sécurité sociale

Critères de non inclusion

- Porteur d'un Pacemaker cardiaque

- Diabète insulino-dépendant
- Obésité morbide (BMI supérieur à 35)
- Bilan de coagulation anormal.

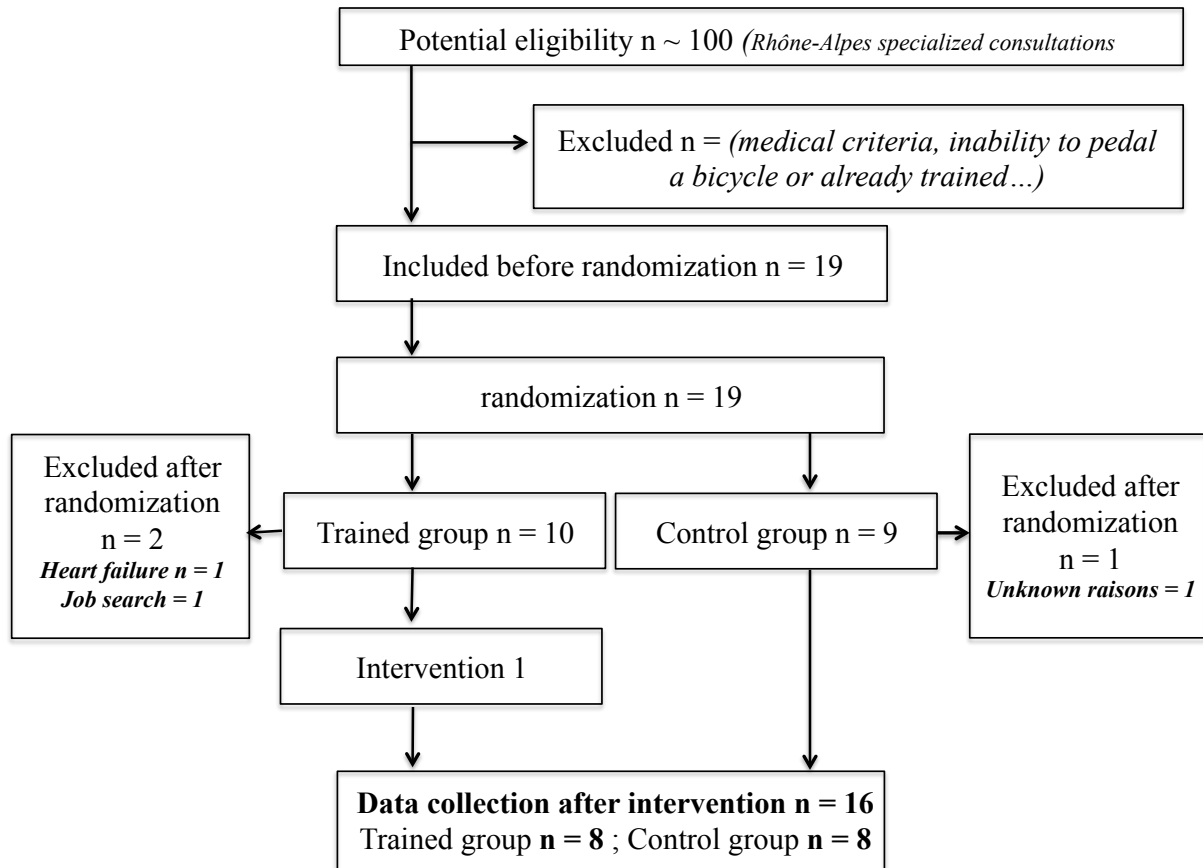


Figure 23 : Diagramme expliquant les différentes étapes du recrutement, de la randomisation et de la répartition des sujets ayant contribué à l'étude contrôlée randomisée.

3. Procédures expérimentales

Compte tenu de la fréquente asymétrie rencontrée dans cette pathologie, les évaluations MVC, test de fatigue et biopsie de muscle ont toujours été réalisés du même côté du corps. Ce côté a été déterminé à l'occasion de l'examen clinique d'inclusion. Le quadriceps le moins atrophique a été choisi afin d'assurer la meilleure faisabilité du prélèvement musculaire. Le protocole expérimental est présenté figure 24.

Généralement, la visite d'inclusion a été réalisée à 3 semaines de la première évaluation. Pour cette visite d'inclusion à l'hôpital, le sujet avait réalisé un examen médical préalable et complet qui prouvait que sa santé cardio - respiratoire ne présentait pas de contre indication à l'exercice physique. Ensuite, il a été classé de façon aléatoire, par randomisation dans l'un des

deux groupes : TG ou CG. Trois quarts des 16 sujets ayant achevé l'étude ont été recrutés à St Etienne et Lyon (<100 km) et inclu et évalué à St Etienne. Le 1/4 restant a été recruté, inclu et évalué à Grenoble. Les patients ont été évalués dans le laboratoire le plus proche (LPE à St Etienne et LREX à Grenoble). Trois visites séparées d'au moins de 72 heures ont été nécessaires pour les mesures pré- et post-période d'entraînement. Entre ces deux temps, des évaluations intermédiaires non-invasives ont été réalisées toutes les 6 semaines (VO_2 max, TM6 et questionnaires) ou toutes les 12 semaines (Mesures de force et d'endurance musculaire).

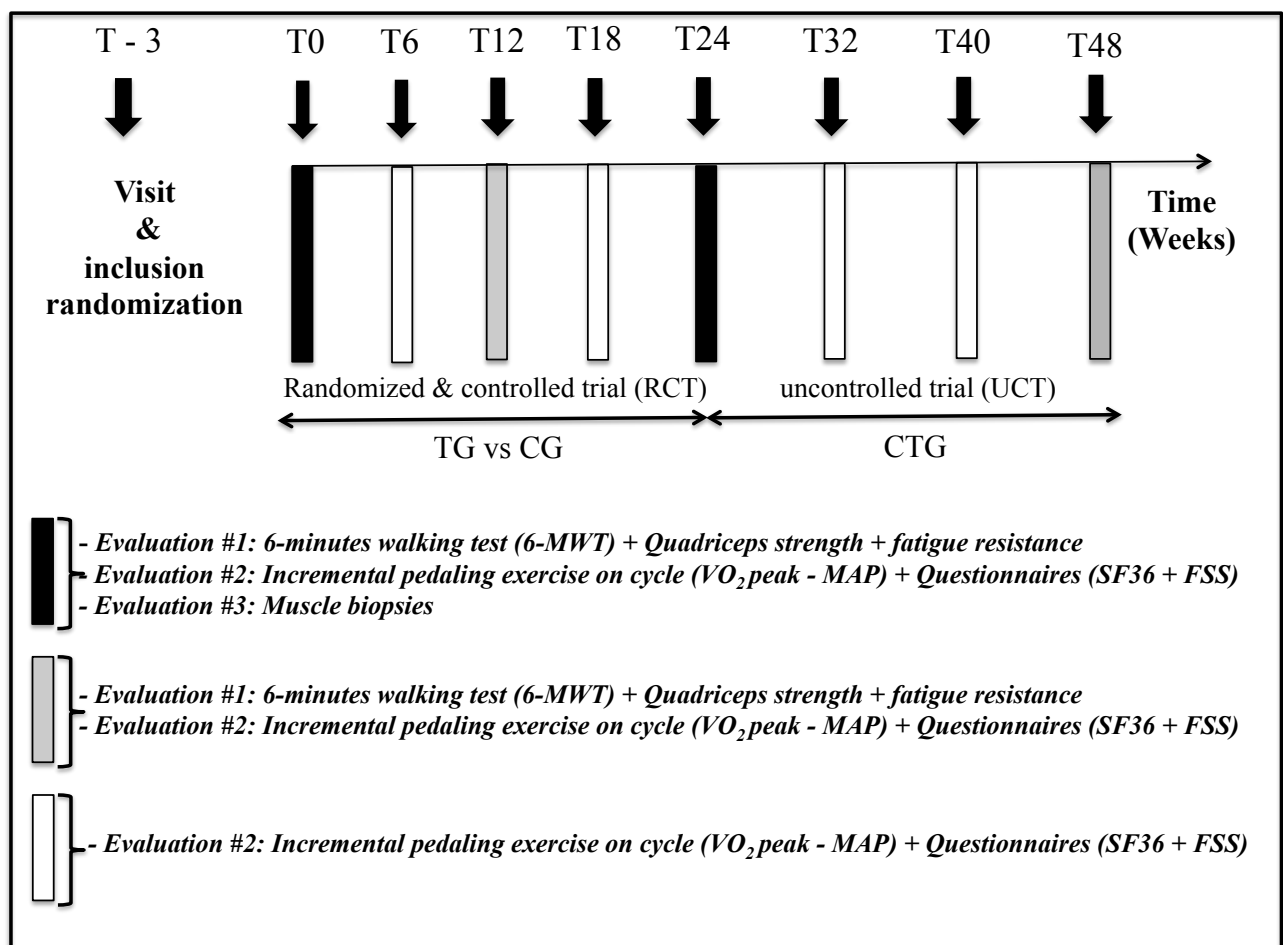


Figure 24 : Protocole expérimental montrant la récurrence des différentes évaluations au cours de l'étude. TG, groupe entraîné et CG, groupe contrôle bénéficie d'évaluations aux semaines T-3, T6, T12, T18 et T24, pendant l'étude contrôlée randomisée (RCT). CTG, ex-groupe contrôle devenu entraîné bénéficie d'évaluations aux semaines T32, T40 et T48, partie non contrôlée de l'étude (UTC).

4. Contenu du programme d'entraînement

Les sujets ont été soumis à un entraînement des membres inférieurs, combiné en force et en endurance. Ce programme d'entraînement conduit sur 24 semaines consistait en 3 séances hebdomadaires de 35 mn à domicile sur un ergocycle fourni dans le cadre de l'étude. Ces trois séances étaient systématiquement espacées d'un jour de repos. Chaque semaine le patient entraîné a réalisé 2 séances en endurance à état stable et une séance d'exercices fractionnés. Un cardiofréquencemètre enregistreur a été également mis à disposition des patients pour le recueil des fréquences cardiaques pendant les exercices (Polar FT7F, Polar, Kempele, Finland), ce qui a permis aussi d'évaluer l'assiduité. A chaque séance, après un échauffement de 5 minutes, les sujets effectuaient une des deux modalités de séance à proprement dite (endurance ou fractionnée) de 25 minutes suivie de 5 minutes de travail spécifique en force (après les séances en endurance) ou de 5 minutes de pédalage modéré de récupération (à l'issue de la séance fractionnée).

a. Entraînement aérobic continu + force

Les 2 séances hebdomadaires en endurance étaient basées sur un travail de pédalage à état stable. Après 5 minutes d'échauffement à 40% de la MAP préalablement déterminée lors d'une épreuve progressive), 25 minutes de pédalage ont été réalisées à 60% de la MAP. La séance se terminait par du travail de renforcement avec 5 séries de 10 tours de pédalage à intensité maximale ou supramaximale avec 1 min de récupération entre ces séries (figure 25). Les mesures de VO_2 max et de MAP ont été réalisées en laboratoire sur bicyclette ergométrique (Monark 868, Monark, Suède) toutes les 6 semaines pour évaluer l'aptitude du sujet mais aussi pour adapter son entraînement. Si le patient améliorait sa MAP, alors les valeurs d'entraînement (40% et 60% de MAP) sont ajustées à l'évolution du patient. Toutefois, l'augmentation de charge dépendait non seulement de cette valeur, mais aussi de la valeur de FC et du ressenti du patient au fil des séances.

AEROBIC SESSION

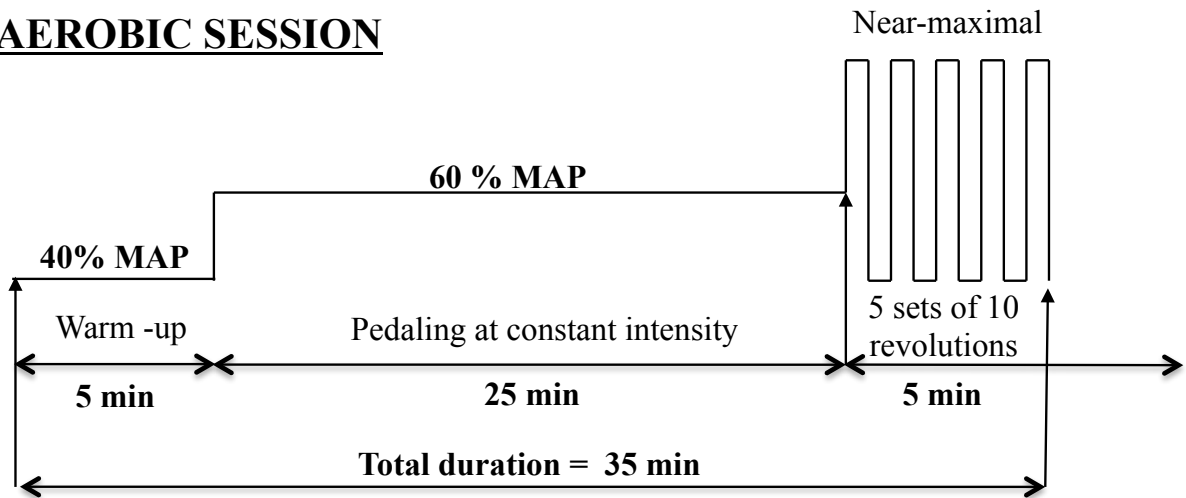


Figure 25 : Déroulement d'une séance d'entraînement aérobic à état stable, dite « endurance ».

b. Entraînement par intervalles

La séance d'entraînement par intervalles était une séance fractionnée. Elle consistait en 5 minutes d'échauffement à 40% de la MAP, suivies de cinq séries de 5 minutes durant lesquelles s'alternaient quatre minutes de pédalage à 40% et une minute à 80% de la MAP. Cinq minutes de récupération à 40% de MAP terminaient la séance (figure 26).

INTERVAL TRAINING SESSION

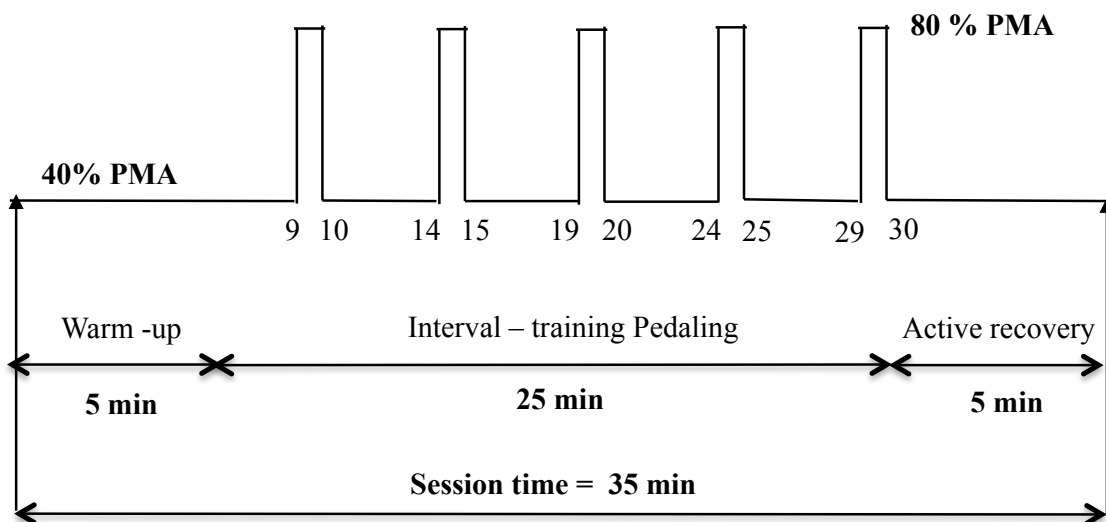


Figure 26 : Déroulement d'une séance d'entraînement dite « fractionnée ».

c. Suivi des séances

Globalement, le programme d'entraînement démarrait dans la semaine suivant la fin des évaluations initiales. Toutes les séances ont été supervisées par le même coach spécialiste d'activités physiques adaptées (étudiant doctorant expérimenté dans l'encadrement en APA). Les 5 à 10 premières séances ont été réalisées à domicile en présence du coach (figure 26). Puis lorsque le principe des séances a été bien acquis par le patient, le coach effectuait un contrôle systématique des séances, chaque jour d'entraînement par téléphone afin de soutenir le patient et se renseigner sur d'éventuels problèmes. De plus, le coach se rendait au domicile du patient une fois par semaine pour le recueil des enregistrements de fréquence cardiaque, des données consignées dans le carnet d'entraînement, des échelles visuelles analogiques de la douleur et de la fatigue générale. Il vérifiait aussi le matériel et, le cas échéant, il adaptait l'intensité des exercices.



Figure 27 : Une patiente pédalant à domicile sur son vélo, lors d'une séance de type en endurance

5. Évaluations réalisées pendant la période d'entraînement

Toutes les évaluations réalisées pendant la période d'entraînement (figure 24) sont identiques pour les deux groupes de patients (TG et CG).

a. Mesures de la fonction neuromusculaire

Ces mesures ont été consacrées au bilan de force et de fatigabilité musculaire du quadriceps. Elles ont duré entre 2h et 2h30. Ces évaluations reprennent la méthodologie validée dans l'étude II présentée ci-avant (Bachasson et al. 2013).

b. Mesures sur cyclo-ergomètre

Ces évaluations reprennent la méthodologie validée dans l'étude II présentée ci-avant.

c. Evaluations fonctionnelles et de qualité de vie

Test de marche de 6 minutes (TM-6)

Ce test permet d'évaluer l'aptitude fonctionnelle à la marche en mesurant la distance parcourue sur un trajet plat standardisé pendant une durée fixe de 6 minutes (King et al., 1999). Il a été réalisé dans un long couloir calme, plat, rectiligne et à l'intérieur. Une ligne droite de 20 mètres de long a été balisée. L'objectif pour le patient est de parcourir, la plus grande distance possible en réalisant des allers-retours autour des balises, sans courir. Le décompte du temps se fait de façon décroissante toutes les minutes à haute voix pour le patient. A la fin du test, le score correspond à la distance totale parcourue en 6 minutes.

Évaluation de la qualité de vie et de la gravité de la fatigue

L'évaluation de la qualité de vie a été réalisée via le questionnaire d'auto - évaluation de la qualité de vie SF-36 (*cf.* annexes 2). Ce questionnaire nous a permis d'évaluer le retentissement de l'entraînement sur la qualité de vie perçue des patients et d'établir des liens entre ces perceptions, la tolérance à l'effort et la fonction neuromusculaire. Les 8 dimensions de ce questionnaire telles que nous les avons utilisées pour cette étude ont été présentées dans l'introduction de ce manuscrit au paragraphe « Outils d'évaluation » du paragraphe « Notion de qualité de vie ». La gravité de la fatigue a été évaluée grâce aux 9 items du questionnaire FSS (*cf.* annexes 3).

Évaluations visuelles analogiques quotidiennes de la douleur et la fatigue

Chaque matin à heure fixe, les patients ont évalué leur perception du niveau globale de douleur et de fatigue en utilisant une échelle visuelle analogue (EVA, *cf.* annexes 4). C'est une échelle d'autoévaluation se présente sous la forme d'une droite de 10 cm. Le niveau 0 correspondant à « pas de fatigue » ou « pas de douleur » et le niveau 10 correspondant à

« épuisement total » ou « douleur insupportable ». Le patient doit marquer à quel niveau de la droite, il peut représenter sa douleur ou sa fatigue du jour.

d. Analyses du tissu musculaire

Deux prélèvements musculaires ont été réalisés chez chaque patient des deux groupes, l'un à T0 l'autre à T24. Ces biopsies ont été faites dans le muscle vaste externe (à un niveau correspondant au 1/3 inférieur de la distance entre de la limite supérieure de la rotule à la partie antéro supérieure de l'os iliaque). Comme cela a été précisé plus haut, en raison de la fréquente asymétrie dans cette myopathie, le muscle le plus volumineux a été choisi. Après une anesthésie locale (xylocaïne 2%), une incision d'environ 7 mm de longueur est réalisée dans la peau et jusqu'au fascia. Un échantillon d'environ 150 à 200 mg de muscle est prélevé selon une procédure décrite par Henriksson (Henriksson, 1979) et largement utilisée dans notre groupe de recherche (Féasson et al., 2002; Charifi et al., 2003; Verney et al., 2008). La deuxième biopsie à T24 (post-entraînement) a été faite latéralement et à une distance de 2 cm en hauteur du site de la biopsie initiale T0 (pré-entraînement) du même muscle vaste externe.

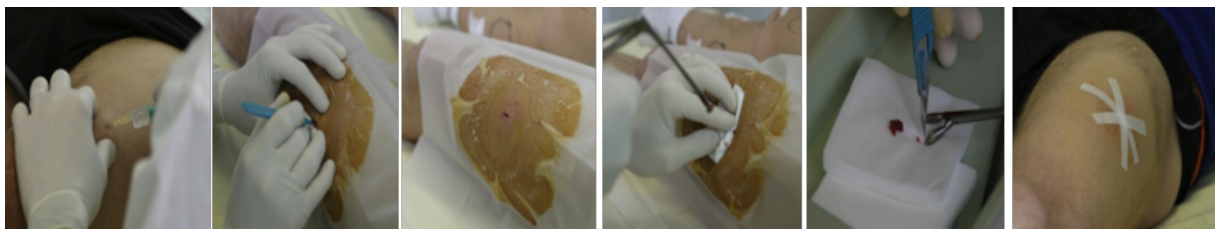


Figure 28: Biopsie musculaire à la pince de Weil Blakesley, une méthode miniaturisée réalisée sous anesthésie locale après une incision de 7 mm, permettant d'obtenir environ 200 mg de muscle et refermée par une suture adhésive stérile sans point.

L'échantillon a été disséqué extemporanément sous une loupe binoculaire et réparti selon différents conditionnements, puis congelé et conservé dans l'azote liquide en attente des analyses. Le fragment dédié aux études histologiques a été inclus dans un milieu d'enrobage (Cryomount; Histolab, Göteborg, Suède) et congelé dans l'isopentane refroidi à son point de congélation dans l'azote liquide puis stocké.

Analyses enzymatiques

Les échantillons musculaires, jusque-là conservés dans l'azote liquide, subissent une lyophilisation (Lyovac GT2, Leybold- Heraeus), puis sont disséqués (élimination d'éventuels caillots de sang et de l'excès de tissus conjonctif et adipeux). Ils sont ainsi réduits en poudre

dans une enceinte à humidité contrôlée (< 40% d'humidité relative) et pesés puis dissous dans un tampon phosphate 0,1M (pH 8,2) à 4°C, contenant 5 mM de bêta-2-mercaptoethanol, 30 mM NaF, 5 mM MgCl₂ et 0,5 mM d'ATP. Les mesures d'activité de la créatine kinase (CK) (Szazs et al., 1976), du lactate déhydrogénase (LDH) (Lowry et Passonneau, 1972) et de la citrate synthase (CS) (Essen- Gustavsson et Henriksson, 1984) ont été déterminées par spectrofluorométrie. Ces activités enzymatiques ont été mesurées à 25°C et exprimées en micromoles par minute par gramme de tissu sec. Les protocoles précis est présenté en annexe 8, 9 et 10).

Analyses typologiques et morphométriques

Les analyses de typologie et de morphométrie ont été réalisées grâce à l'utilisation des techniques de coloration immunohistochimiques réalisées sur des coupes transversales sériées de 10µm obtenues à l'aide d'un microtome (HM 560, Microm Microtech, Walldorf, Germany Microtech). Cette typologie a permis de distinguer les fibres de type I (dites « lentes ») des fibres de type II (dites « rapides »). Nous avons utilisé l'anti-corps monoclonal extrait de souris dirigé contre les chaînes lourdes de myosine de type I humaine (NCL - MHCs ; Leica Biosystems newcastle, United Kingdom) (Kadi et al., 1998). Le compte des cellules et leurs mesures morphométriques ont été réalisés en aveugle, toutes biopsies confondues et sans connaissance de l'état pré- ou post-entraînement des sujets, sur des images acquises via un microscope (Leica DM2000 LED, Germany) équipé d'une caméra CCD de 8 mégapixel (Leica microsystem, Wetzlar, Allemagne). Les mesures sur les images ainsi saisies ont été effectuées avec le logiciel SigmaScan Pro 5.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Le détail du protocole est présenté en annexe 6.

Manuscrit de l'article 3 - Safety and effectiveness of 6-month home-based exercise therapy in facioscapulohumeral muscular dystrophy: a randomized, controlled trial.

Landry-Cyrille Bankolé, Guillaume Y Millet, John Temesi, Damien Bachasson, Bernard Wuyam, Samuel Verges, Fawzi Kadi, Elodie Ponsot, Jean-Christophe Antoine, Léonard Féasson.

SAFETY AND EFFECTIVENESS OF 6-MONTH HOME-BASED EXERCISE THERAPY IN FACIOSCAPULOHUMERAL MUSCULAR DYSTROPHY: A RANDOMIZED, CONTROLLED TRIAL.

Landry-Cyrille Bankolé, MSc; Guillaume Y Millet, PhD; John Temesi, PhD; Damien Bachasson, PhD; Bernard Wuyam, MD, PhD; Samuel Verges, PhD; Fawzi Kadi, PhD; Elodie Ponsot, PhD; Jean-Christophe Antoine, MD, PhD; Léonard Féasson, MD, PhD.

From Laboratory of Exercise Physiology (LPE EA 4338), University of Lyon, Saint-Etienne, France; Unit of Myology, University Hospital of Saint-Etienne, Saint-Etienne, France; Division of Sport Sciences, School of Health and Medical Sciences, Orebro University, Orebro, Sweden; INSERM, U1042, F-38000 Grenoble, France; Human Performance Laboratory, Faculty of Kinesiology, University of Calgary, University Drive NW, Calgary, AB, Canada; Université Joseph Fourier, Laboratoire HP2, F-38000 Grenoble, France; Referent center of rare neuromuscular diseases of Rhône-Alpes, France.

Correspondance:

Pr Guillaume Y Millet

Human Performance Laboratory, Faculty of Kinesiology, University of Calgary

2500 University Drive NW, Calgary, Alberta, CANADA T2N 1N4

gmillet@ucalgary.ca

Tel: +33 4 76 76 68 60; Fax: +33 4 76 76 89 21

SAFETY AND EFFICIENCY OF 6-MONTH HOME-BASED EXERCISE THERAPY IN FSHD: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL

Landry-Cyrille BANKOLE ^{a b c}, Guillaume Y MILLET ^{a d e}, John TEMESI ^{a d e}, Damien BACHASSON ^{e f}, Bernard WUYAM ^{d f g}, Fawzi KADI ^c, Elodie PONSOT ^c, Jean Christophe ANTOINE ^e et Léonard FEASSON ^{a b g}

^aLaboratory of Exercise Physiology (EA 4338), University of Lyon, Saint - Etienne, France ; ^bUnit of Myology, University Hospital of Saint - Etienne, Saint - Etienne, France ; ^c Division of Sport Sciences, School of Health et Medical Sciences, Orebro University, Orebro, Sweden ; ^dINSERM, U1042, F-38000 Grenoble, France; ^eHuman Performance Laboratory, Faculty of Kinesiology, University of Calgary, Calgary, Canada ; ^f Université Joseph Fourier, Laboratoire HP2, Grenoble, France ; ^g Referent center of rares neuromuscular diseases of Rhône Alpes, France ; et.

INTRODUCTION

Facioscapulohumeral dystrophy (FSHD) is an autosomal dominant neuromuscular disease (NMD) affecting muscles of face, shoulder girdle and upper arm and patients develop significant muscle weakness over the years. Typically, the muscle weakness is selectively asymmetric and it has been reported that it becomes progressively worse with muscle wasting increase (Bradley and Kelemen, 1979). To date, despite considerable advances in molecular biology research and in development of drug therapy, FSHD has no available and efficient therapeutic approach. In patients with FSHD, muscle weakness is associated with fatigue, diminution of endurance and increase in ventilatory needs during performance in normal daily activities (McCrorry et al., 1998). Some studies have reported that maximal oxygen uptake (VO_2 peak), generally accepted as a measure of cardiorespiratory fitness and work capacity, is lower in patients with NMD compared with non-diseased controls (Wright et al., 1996). Muscle weakness and fatigue, impairments of mobility and reduced physical activity also contribute to progressive deterioration of general physical and mental health, diminution of social integration as well as quality of life (Cup et al., 2007).

Exercise has been shown to be safe and efficient in different diseases such as cardiovascular and respiratory failures, diabetes and cancer (e.g. (Segal et al., 2001). The potential role of physical exercises in NMD, especially in dystrophic myopathies, has been recently underlined. Some studies have been performed to assess safety and possible benefits of exercise training in improving the global fitness and aerobic capacity and muscular strength

(van der Kooi et al., 2005). Therefore, physical activity stands out as a palliative treatment to limit muscle atrophy, to limit cardiorespiratory and metabolic deconditioning and prevent excessive fatigue in NMDs. Unfortunately, most of the published studies combined patients with different NMDs so that conclusions from these studies have limited applicability. Furthermore, these studies were conducted on short-term supervised periods, often less than 16 weeks.

To date, only two aerobic-training studies and two strength-training studies have been performed in FSHD patients (Voet et al., 2013). Aerobic training has been shown to safely increase aerobic capacity, oxygen extraction ($a-vO_2$ diff) and quality of life. On the contrary, improvement of maximal strength by doing only resistance training is still highly debated. Van der Kooi *et al.* (2005) and Cup *et al.* (2007) have suggested that the combination of aerobic and strength training would be more relevant. However, to the best of our knowledge, no information has been reported on combined training in FSHD patients. More importantly, there is an evident lack of long-term studies on FSHD and exercise. In particular, patient's autonomy and whether or not regular exercise practice can be maintained in patient's daily life is unknown so that controlled and randomized studies are needed to confirm and validate the potential beneficial effects of physical training in FSHD patients.

Here, we hypothesized that an adapted training program designed to be compatible with the patients' daily professional/social/familial activity can induce functional and muscle histological/chemical benefits. The main purpose of the present study was to evaluate in a randomized and controlled trial, the effects of a 24-weeks home-based training program combining aerobic and resistance training on physiological, neuromuscular and motor functions of patients with FSHD. The secondary purpose was to evaluate the compliance rate of the training and its influence on the quality of life of these patients.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

Nineteen patients with molecular diagnosis of FSHD volunteered for the study. After giving their writing consent, patients were split into a trained group (TG) and a control group (CG) according a computer-generated randomization list (Table 1). All subjects were able to exercise on a cycle ergometer and none have participated in any other study that included a physical exercise program before. With the exception of the training program of the study, the subjects were instructed to not change their usual daily activities and habits. Subjects were excluded if they had a history of cardiovascular disease included cardiac arrhythmias or any clinical cardiovascular anomaly and a review of abnormal clotting during initial, intermediate and final testing. All procedures were performed in accordance to the Declaration of Helsinki and were approved by the local ethics committee (Clinical Trials Registry, number: NCT01116570, Comité de Protection des Personnes Sud-Est 1, France).

Experimental design

This study, summarized in Figure 1A, was carried out over 12 months split in two periods: a first 24-weeks randomized and control trial (RCT: T0 to T24) and a second 24-weeks non-randomized period (uncontrolled trial, UTC: T24 to T48). The training consisted in home-based supervised training program combining strength and aerobic exercises on an ergocycle. At T24, patients of CG who accepted to continue the study were enrolled to perform the home-based supervised training program and become the control-trained group (CTG). The same training protocol, the same measurements and the same design of RCT has been used in the UTC.

At least 3 weeks before the first part of experimental period, subjects were invited to the closest partner laboratory to be tested (Saint-Etienne or Grenoble). PRE and POST-testing sessions required 3 visits in the laboratory, at least 72 hours apart. The first testing session consisted in a 6-min walking test (6-MWT) and in a determination of quadriceps strength and fatigue resistance (QIF-test). During the second testing session, the subjects performed an incremental cycling test and they answered questionnaires on fatigue perceived and quality of life (Ware *et al.*, 1992). The third session was dedicated to the motor function measurement (Berard *et al* 2005) and muscle biopsies using the Weil-Blakesley's percutaneous conchotome technique. Muscle biopsies were performed in both laboratories by the same investigator. CK concentrations were measured before training as baseline and 24h after each session of evaluation performed every six weeks. Details of testing are presented and summarized in

Figure 1. In UTC, values at T24 for CG were considered as baseline for the CTG. While, the time between assessments was six weeks in RCT, it has been increased to eight weeks in UTC.

Outcome measurements

Neuromuscular function evaluation

Neuromuscular measurements, i.e. maximal voluntary contraction (MVC), endurance and fatigue resistance were performed using a novel test named “QIF test” recently validated by our group (Bachasson et al., 2013b). In brief, it consists to install the subject lying supine on a customized chair so as to facilitate a proper coil position in the femoral triangle for femoral nerve magnetic stimulation (FNMS). To avoid interference movement of others muscles, two belts were used to maintain fixed thorax and abdomen and subjects were asked to keep their hands on their abdomen. Then, voluntary strength (MVC) and evoked responses to FNMS were measured with an inextensible ankle strap connected to a strain gauge (SBB 200 kg Tempo Technologies, Taipei, Taiwan). During MVC, the subject was encouraged by the experimentators. After, these initial neuromuscular assessments the largest MVC was chosen, and sets of 10 intermittent and sub-maximal contractions (5-s on/5-s off) starting at 10% MVC with an increment of 10% MVC were performed, until task failure. The initial load at T0 was keep constant all of « QIF test session during the training program.

Maximal aerobic power

A standard incremental cycling test was performed to assess patients’ maximal power output (MAP) and peak oxygen uptake (VO_{2peak}) on a stationary bicycle (Monark ergomedic, 839 E - Sweden) as previously described (Bachasson et al., 2013b).

Index of muscle damage

Twenty-four hours after neuromuscular and physiological assessments (incremental cycling, fatigue and strength tests), a blood test was made to evaluate the level of serum creatine kinase (see Figure 1).

Six minutes walk test (6-MWT)

This test consists in walking on the longest distance during 6-min and was realized as previously described (Bachasson et al., 2013b).

Rating of quality of life, perceived fatigue and pain

Quality of life and fatigue severity were evaluated with two different questionnaires: the Short Form Health Survey (SF-36) and the Fatigue Severity Scale (FSS) respectively. The different scores were established as described in previous study (Bachasson et al., 2013a). Every morning, the subjective levels of perceived soreness and tiredness was determined with a self-rated visual analogic scale (VAS) as previously described (El Mhandi et al., 2008).

Muscle biology

Muscle biopsies. Before and after (two to seven days after the last training session) the training program, muscle biopsies were taken from the *vastus lateralis*. The post-training biopsy was taken 2 cm away vertically and laterally from the site of the pre-training biopsy. The procedure used for removing (Henriksson, 1979) and conserving muscle sample has been previously widely used in our research group (Charifi et al., 2003c; Feasson et al., 2002; Verney et al., 2008b).

Immunohistochemical analyses. Fiber type determination, distribution and morphology have been analyzed as previously described (Charifi et al., 2003c; Feasson et al., 2002; Verney et al., 2008b). Hemalum eosin safran coloration enabled evaluation of common muscle remodeling signs such as necrotic fibers, fibrosis, and internalized nuclei. Counts of muscle fibres type were performed (Charifi et al., 2004c).

Digital image capture and fibre area analysis. Measurement of fibre cross-sectional area (CSA) were performed as previously described (Charifi et al., 2004c).

Enzyme activities. Enzymes activities of creatine Kinase (CK), Lactate dehydrogenase (LDH), citrate synthase (CS) were determined as previously described (Vincent et al., 2012).

Participants' adherence

Participants' adherence to training program has been evaluated as the ratio of the number of training sessions they performed at home over the total number of training sessions. Each session was controlled by the investigators since the subjects wore a heart rate monitor during each workout.

Training program

Training consisted in three cycling sessions per week at home, each session lasting 35 min and being entirely performed on a stationary ergocycle (Fig 1B). The first 5 to 10 training sessions (according to the patient's claim) were supervised by a coach (*i.e.* the PhD student fully involved in the protocol and experienced in personal coaching for disable people) at the

patient's place. Every training day, the coach phoned the patients to support them and ask for potential problems. Once a week, the coach visited the patients to record heart rate, VAS and training log, check the equipment and adapt the exercise intensity based on the new MAP value after each periodic incremental cycling test or based on heart rate reduction compared to the theoretical value.

Statistical analysis

All variables are presented as mean values \pm Standard deviation. Normal distribution of data and variance homogeneity between samples were checked by a Shapiro-Wilk normality test and Skewness test, respectively. All variables were normally distributed and variances were homogeneous. In RCT, a two-way (Groups \times Time) ANOVA with repeated measures was used to determine the effects of the group, the intervention and their interaction. When an interaction was found significant, a Newman-Keuls *post-hoc* test was performed to locate the differences. In UCT, a one-way repeated-measures ANOVA was used to determine statistical difference. Pearson's *r* correlation coefficient was used to determine the relationship between selected variables. The criterion for statistical significance was set at $p < 0.05$.

RESULTS

In all parameters, there were not significantly difference between TG and CG at T0 (Table 1).

Training compliance. TG patients completed 66 training sessions while CTG completed 60 training sessions, representing 91% and 83% of the 72 prescribed trainings sessions, respectively. No major side effect of training has been reported during the training period.

Quality of life and FSS questionnaires. During RCT, overall scores from the SF-36 in physical as well as mental health summary scale remained stable in TG and CG at T24 (Table 3). Interestingly, intra analysis from mental health score showed that *vitality* dimension tended to improve in TG ($p = 0.06$). Similarly in UCT, overall scores from the SF-36 also stayed stable at T24 compared to T0. Also, intra analysis from mental health showed that *Social participation* dimension tended to improve in CTG ($p = 0.06$). Fatigue determined by FSS questionnaire decreased significantly in TG and CTG (Table 3 and Fig 2F). Inverse relationship was found between FSS (%) and mental health of SF-36 ($r = - 0.44$; $p = 0.02$). Analyses from rating of perceived pain and fatigue showed no significant change in subjective daily levels of reported perceived soreness and tiredness.

VO₂ peak, workload, heart rate and lactatemia. During RCT, VO₂peak and MAP improved significantly in TG only by 29% and 58% respectively. Similarly in UCT, VO₂ peak and MAP increased significantly in CTG by 17% and 30%, respectively (Fig. 2A and 2B). VO₂ peak and MAP improvements occurred early in the first weeks of training in TG (T6; $p < 0.001$) and in CTG (T32; $p < 0.001$). Maximal lactatemia did not change significantly for any group in RCT and UCT (not shown).

QIF test. At T24, MVC and muscle endurance improved by ~ 23% and ~ 17% in TG. At T48, muscle endurance was also increased by ~ 11% in CTG while MVC did not changed (Fig 2C and 2D). No training effect was found on evoked responses and fatigue resistance in both CG and CTG (Table 2). Changes in muscle endurance and MVC were correlated with changes in FSS (Fig 4A and 4B) and in MAP ($r = 0.60$, $p = 0.001$; $r = 0.61$; $p = 0.001$; not showed).

6-MWT. At T24 and T48, 6-MWT distance increased significantly by ~ 13% in CG and CTG, respectively (Fig 2E). Analysis showed significant correlations between changes in 6-MWT and FSS (Fig 4C), VO₂ peak (Fig 3C), MAP ($r = 0.72$, $p < 0.001$; not showed), and MVC ($r = 0.68$, $p < 0.001$; not showed).

Creatine Kinase levels. Plasma CK dosages realized 24h after maximal cycling test and QIF test stayed below 1000 IU/L at T0, T6, T12, T18 and T24 in TG and CTG. In one patient

from TG with a baseline value higher than 1000 IU/L, post-exercise values were found between 1000 and 2000 IU/L at T0, T6, T12, T18 and T24.

Muscle biopsy analysis. While training showed no effect on muscle fibres distribution, biopsies analysis showed positive effects of training in CSA (Fig 5A). CSA from TG increase significantly by ~ 33%. CS and CK enzymatic activity levels increased by ~ 46% and ~ 15%, respectively in TG at T24, while LDH enzymatic activity did not change in either CG or TG (Table 4).

DISCUSSION

To our knowledge, this study is the first controlled and randomized clinical trial evaluating the safety and the efficiency of combined training on motor function, muscle histological and biochemical analysis and quality of life over 24 weeks on FSHD patients. The main findings are that, in patients with FSHD, combining strength and endurance training can (i) increase maximal aerobic power (MAP and VO₂ peak) and CS enzyme activity; (ii) develop muscle strength and endurance with parallel increased muscle fibres CSA; (iii) improve motor function (walking speed); (iv) reduce fatigue experienced by the patients. The proposed training did not alter general quality of life and muscle quality (CK levels) of patients with FSHD. Taken together, these findings confirm our hypothesis that a combined training is a safe and effective long-term method, induces several functional benefits without muscle damage and with a positive effects on the *vitality* and *social participation* dimensions of quality of life.

Adherence and safety

In the present study, the duration of training program was 2 fold longer than that of the majority of such studies reported in the literature. Despite this, the adherence rate to training sessions was 83 to 91%, i.e. was similar to those reported in previous shorter training program in NMD (Sveen et al., 2007; Taivassalo et al., 1998; Voet et al., 2013) and in FSHD (Olsen et al., 2005). The adherence level was not affected by the duration of the training period suggesting that a supervised and base-home training is an important source of motivation. Since training was performed at home, the patients were free from time constraints and schedules imposed in traditional rehabilitations programs. This result supports and reinforces a managerial approach of patients FSHD based on supervised home-based training in order to promote a substantial participation of patients.

The major current concern was whether patients with dystrophic diseases could achieve a long-term training safely and without muscle damage. In RCT and UCT, blood plasma CK levels remained unchanged and the subjective levels of perceived soreness and tiredness did not changed during the training period. Histology analysis (HES, performed only in RCT) revealed an absence of changes in muscle structure suggesting that the sarcolemma integrity was not affected. This evidenced that our training program has been well tolerated. In addition, unchanged scores from SF-36 in physical and mental health summary before and after the training period in RCT and UTC were the obvious signs that our training program

did not affect the quality of life. Interestingly, *vitality* component and *social participation* of mental health tended to improve with training in both TG and CTG. Thus, long-term training appears to be a safe therapeutic method that induces neither muscle damage nor other adverse effects.

Aerobic capacities

VO₂ peak and MAP increases in TG and CTG (Fig 2A, 2B) confirm the beneficial effects of aerobic training reported in previous studies in NMD (Olsen et al., 2005; Voet et al., 2013). In RCT, improvement in VO₂ peak at T24 is accompanied by an increased mitochondrial potential indicated by the enhancement in CS activity (46%) which is known to be one of the key enzyme of the mitochondrial function and regularly reported as one of aerobic training-related mitochondrial adaptations (Charifi et al., 2004b; Vincent et al., 2012). Muscular CK activity also improved by 15%. Since, CK plays a key role in the regulation in aerobic metabolism ((Momken et al., 2005; Saks et al., 1996), CS and CK work currently to provide the necessary amount of ATP for contracting muscles. Both enhancements in CS and CK suggested an improvement in oxidative phosphorylation with training. Aerobic capacity improvements at T12 were higher than those described in the majority of studies on dystrophic patients and higher than those observed in the only study reported on the effects of aerobic training in FSHD patients for the same duration (Olsen et al., 2005). One part of explanation of these different changes in training response could be the low initial fitness level of the patients in the present study. However, it could also be due to the modalities of training: interval-training program result in significant higher increased aerobic capacity compared to continue aerobic training (Helgerud et al., 2007; Ronnestad et al., 2014). In Olsen and co-worker's study, FSHD patients performed a continuous aerobic training program alone while in our study, FSHD patients achieved a training program combining continuous aerobic exercises (2/3) with interval training exercise (1/3). This suggests that a high-intensity aerobic interval is efficient in FSHD patients. Moreover, our results showed that improvements in VO₂peak and MAP appeared early at T6 and increased significantly until T12. Then, VO₂peak continued to increase moderately after T12, while MAP keep getting better beyond the first 12 weeks of training. At T24, VO₂ peak and MAP increases were about two to three fold higher than those observed in patients with FSHD in Olsen and co-workers studies (Olsen et al., 2005). The additional improvement in cardiorespiratory adaptation after T12 showed the evident role of training duration on aerobic capacity with

FSHD (Green et al., 2013; Reid et al., 2005). This finding is very important since it underlines the impact of training duration on the changes level. Thus, our study extends previous physiological conclusions, reporting short-term improvement in aerobic capacity and demonstrates that aerobic capacity can be improved beyond 3 months up to 6 months, with a training program combining continuous aerobic exercises with interval training exercises.

Maximal strength

In RCT, combined training also improved quadriceps maximal strength by 17% at T24. Our results are contrary to those reported in the two studies in FSHD. Although some studies have shown strength improvement after resistance training in NMD, it was not clear whether the mechanism underlying this improvement was mainly due to neural adaptation and/or to muscle adaptation (hypertrophy). High levels of maximal voluntary activation were found in both TG and CG at baseline ($> 95\%$) confirming our recent findings (Bachasson et al. 2013). Not surprisingly starting from such high levels of voluntary activation, no training effect was found at T12 and T24 on this parameters, suggesting that strength gain were due to structural changes. This is confirmed by muscle biopsy analysis showing positive effects of training on CSA (+ 38%) at T24. Muscle hypertrophy is generally reported to play major role in strength enhancement (Charifi et al., 2004b; Kadi et al., 2004b; Verney et al., 2008a). Unlike RCT however, non-significant improvement in quadriceps muscle strength were detected in UCT.

Fatigue, endurance and motor function

Significant changes in both RCT and UTC were found in muscle endurance and motor function of patients with FSHD. This improvement of muscle endurance might be explained by concomitant improvement in aerobic capacity and quadriceps muscle strength (since the load was kept constant) reported above. This is supported by the significant correlation between muscle endurance and both MAP and MVC. Recently, lower quadriceps endurance (i.e. time of exhaustion during dynamic submaximal contractions) has been reported in FSHD patients compared to controls subjects (Bachasson et al., 2013a; Turki et al., 2012). Turki and colleagues (Turki et al., 2012) demonstrated a positive relationship between quadriceps endurance and quadriceps strength (i.e. MVC) in FSHD patients and showed that both parameters were correlated with functional abnormalities. Interestingly, it has been reported that mitochondrial disruption and oxidative stress are important dysfunctions causing muscle weakness and functional muscle impairment in FSHD (Turki et al., 2012). Thus, any

treatment that could regulate mitochondrial impairment might be an appropriated solution to activate and maintain muscle function from patients with FSHD. Our physical therapy outcomes showed a strong positive relationship between VO_2 peak and quadriceps strength and quadriceps endurance. Increasing in VO_2 peak suggested a probable activation of mitochondrial biogenesis since CS is increase with training. This hypothesis suggests a relationship between mitochondrial biogenesis and muscle function as reported by previous studies.

Beneficial changes were also found in motor function (6-MWT) in both RCT and UTC were found correlated with changes in VO_2 peak, MVC and muscle endurance. This suggests that improvements in VO_2 peak might be one of the major key that might trigger improvement in muscle function.

Surprisingly, there was no effect of training on peripheral fatigue assessed through M-wave and $Db_{10:100}$. This unexpected outcome was probably the resultant of a lack of power due to outliers and a high interindividual variability.

Subjective fatigue, described as an important symptom in FSHD patients since it is directly associated with lower functional capacity and deteriorated quality of life (Kalkman et al., 2008), was reduced with training. This reduction was inversely correlated with changes in VO_2 peak, MAP, MVC, muscle endurance and 6-MWT performance. It was also inversely correlated with changes in *mental health SF-36*, suggesting the major role of experienced fatigue in motor function and quality of life in patients with FSHD, thus the beneficial effects of a long-term training program such as the one studied here.

In conclusion, despite the small size of our sample, this study provides clinically relevant effects of a long-term training program combining aerobic and resistance exercises in patients with FSHD without muscle damage or other adverse effects. Our results supported idea that an active life style based on regular and home-based physical activities should be encouraged as a therapeutic solution. Based on the time-course of adaptations, long-term exercise therapy should be prescribed, in order to optimize the training effects.

Bibliography

- Bachasson, D., et al. . 2013a.** Quadriceps function assessment using an incremental test and magnetic neurostimulation: a reliability study. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology.* 23: 649-658.
- Bachasson, D., et al. . 2013b.** Assesment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol:*
- Bradley, W.G., and J. Kelemen. 1979.** Genetic counseling in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle and nerve.* 2: 325-328.
- Charifi, N., et al. . 2004a.** Enhancement of microvessel tortuosity in the vastus lateralis muscle of old men in response to endurance training. *The Journal of physiology.* 554: 559-569.
- Charifi, N., et al. . 2004b.** Enhancement of microvessel tortuosity in the vastus lateralis muscle of old men in response to endurance training. *Journal of Physiology of London.* 554: 559-569.
- Charifi, N., et al. . 2003.** Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle and Nerve.* 28: 87-92.
- Cup, E.H., et al. . 2007.** Exercise therapy and other types of physical therapy for patients with neuromuscular diseases: a systematic review. *Arch Phys Med Rehabil.* 88: 1452-1464.
- El Mhandi, L., et al. . 2008.** Benefits of interval-training on fatigue and functional capacities in Charcot-Marie-Tooth disease. *Muscle and Nerve.* 37: 601-610.
- Feasson, L., et al. . 2002.** Molecular adaptations of neuromuscular disease-associated proteins in response to eccentric exercise in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology.* 543: 297-306.
- Green, H.J., et al. . 2013.** Role of exercise duration on metabolic adaptations in working muscle to short-term moderate-to-heavy aerobic-based cycle training. *European journal of applied physiology.* 113: 1965-1978.
- Helgerud, J., et al. . 2007.** Aerobic high-intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Medicine and science in sports and exercise.* 39: 665-671.
- Henriksson, K.G. 1979.** Semi-open muscle biopsy technique: A simple outpatient procedure. *Acta Neurologica Scandinavica.* 59: 317-323.
- Kadi, F., et al. . 2004.** The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *The Journal of physiology.* 558: 1005-1012.
- Kalkman, J.S., et al. . 2008.** Different types of fatigue in patients with facioscapulohumeral dystrophy, myotonic dystrophy and HMSN-I. Experienced fatigue and physiological fatigue. *Neurol Sci.* 29 Suppl 2: S238-240.
- McCrory, M.A., et al. . 1998.** Energy expenditure, physical activity, and body composition of ambulatory adults with hereditary neuromuscular disease. *Am J Clin Nutr.* 67: 1162- 1169.
- Momken, I., et al. . 2005.** Impaired voluntary running capacity of creatine kinase-deficient mice. *The Journal of physiology.* 565: 951-964.
- Olsen, D.B., et al. . 2005.** Aerobic training improves exercise performance in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology.* 64: 1064-1066.
- Reid, R.D., et al. . 2005.** Impact of program duration and contact frequency on efficacy and cost of cardiac rehabilitation: results of a randomized trial. *Am Heart J.* 149: 862-868.
- Rønnestad, B.R., et al. . 2014.** Block periodization of high-intensity aerobic intervals provides superior training effects in trained cyclists. *Scandinavian journal of medicine & science in sports.* 24: 34-42.
- Saks, V.A., et al. . 1996.** Metabolic control and metabolic capacity: two aspects of creatine

kinase functioning in the cells. *Biochim Biophys Acta*. 1274: 81-88.

Segal, R., et al. . 2001. Structured exercise improves physical functioning in women with stages I and II breast cancer: results of a randomized controlled trial. *J Clin Oncol*. 19: 657-665.

Sveen, M.L., et al. . 2007. Endurance training: an effective and safe treatment for patients with LGMD2I. *Neurology*. 68: 59-61.

Taivassalo, T., et al. . 1998. Effects of aerobic training in patients with mitochondrial myopathies. *Neurology*. 50: 1055-1060.

Turki, A., et al. . 2012. Functional muscle impairment in facioscapulohumeral muscular dystrophy is correlated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Free Radic Biol Med*. 53: 1068-1079.

Van der Kooi, E.L., et al. . 2005. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev*: CD003907.

Verney, J., et al. . 2008a. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle and Nerve*. 38: 1147-1154.

Verney, J., et al. . 2008b. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle and nerve*. 38: 1147-1154.

Vincent, L., et al. . 2012. Effects of regular physical activity on skeletal muscle structural, energetic, and microvascular properties in carriers of sickle cell trait. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985). 113: 549-556.

Voet, N.B., et al. . 2013. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 7: CD003907.

Wright, N.C., et al. . 1996. Aerobic walking in slowly progressive neuromuscular disease: effect of a 12-week program. *Arch Phys Med Rehabil*. 77: 64-69.

Figures legends.

Figure 1. Global view of the experimental protocol (panel A), flow diagram (panel B) and schematization of the training program content (panel C). 6-MWT: six minute walking test, VO₂peak: of peak oxygen uptake, MAP: Maximal aerobic power, SF-36: short-form health survey with 36 questions of Quality of life, MVC: isometric maximal voluntary contraction, FSS: fatigue severity scale.

Figure 2: Variation of peak oxygen uptake during training period (VO₂peak, panel A), Maximal aerobic power (MAP, panel B), isometric maximal voluntary contraction (MVC, panel C), number of submaximal repetitions (muscle endurance, panel D), performance in six minutes walking test (distance 6-MWT, panel E) and experienced fatigue (fatigue score, panel F) during the training period for the training group (TG), the control group (CG) and the control-trained group CTG). * Data significantly different to T0 (* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001) ; ^λ Data significantly different to T6 (^λ P < 0.05, ^{λλ} P < 0.01, ^{λλλ} P < 0.01); ^{\$} Data significantly different to T12 (^{\$} 0.05 < P < 0.01); [#] Data significantly different to T24 ([#] P < 0.05, ^{##} P < 0.01, ^{###} P < 0.001), ^{\$} Data significantly different to T32 (^{\$} P < 0.05, ^{\$\$} P < 0.01, ^{\$\$\$} P < 0.001).

Figure 3: Relationships between the changes in VO₂peak and the changes in maximal voluntary contraction (MVC, panel A), muscle endurance (panel B) and performance in six minutes walking test (6-MWT, panel C).

Figure 4: Relationships between the changes in experienced fatigue and the changes in muscle endurance (panel A), maximal voluntary contraction (MVC, panel B) and performance in 6 minutes walking test (6MWT, panel C).

Figure 5: Change in cross-sectional area (CSA) for type I and type II fibre type and the whole muscle before and after training period (panel A) and citrate synthase (CS) values before and after training (panel B). TG: training group; CG: control group.

FIGURE 1

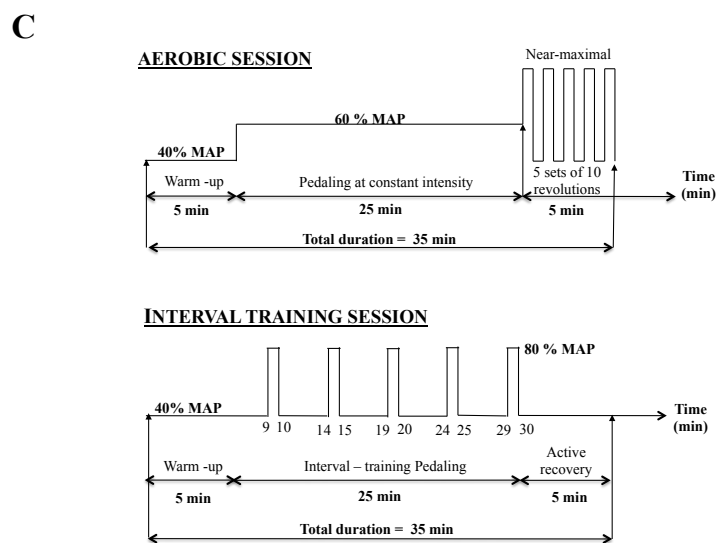
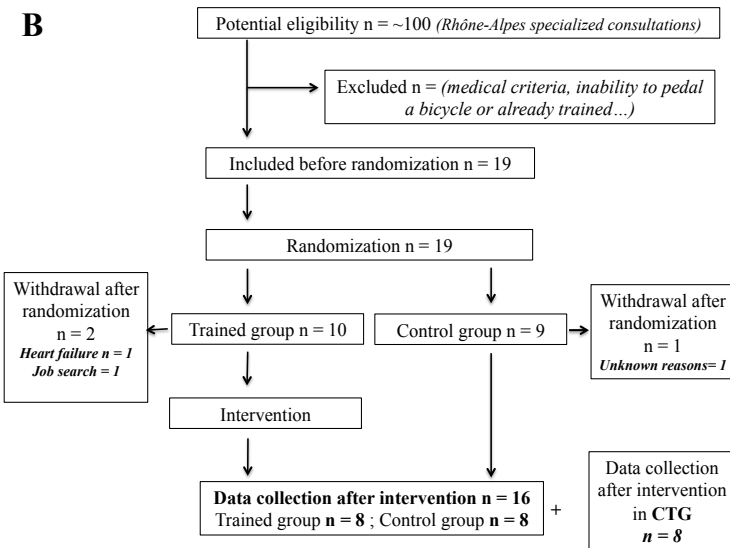
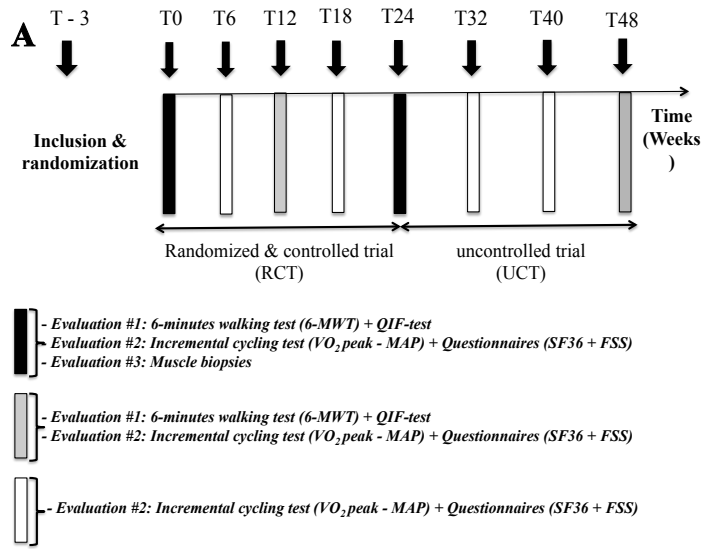
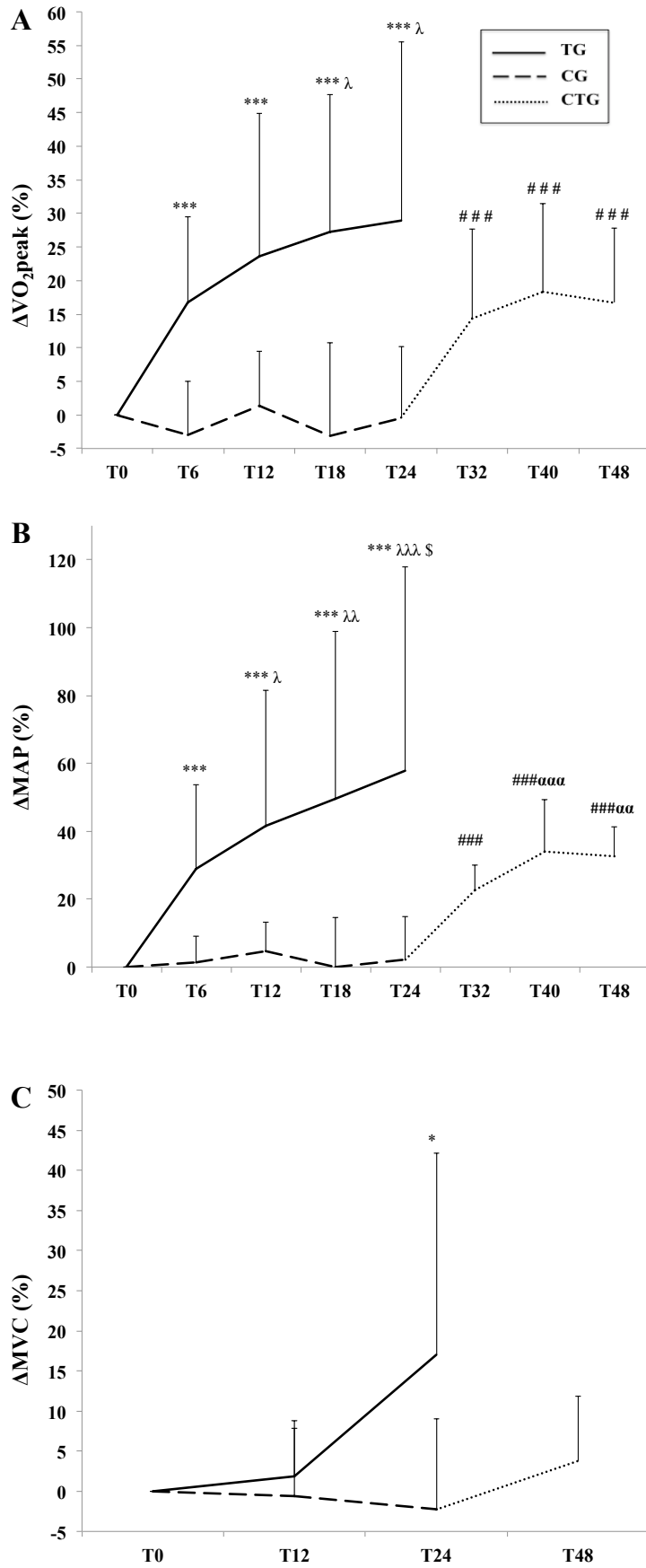


FIGURE 2



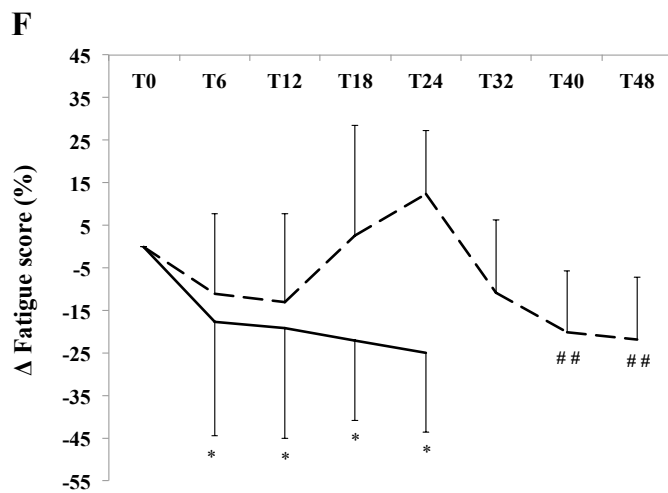
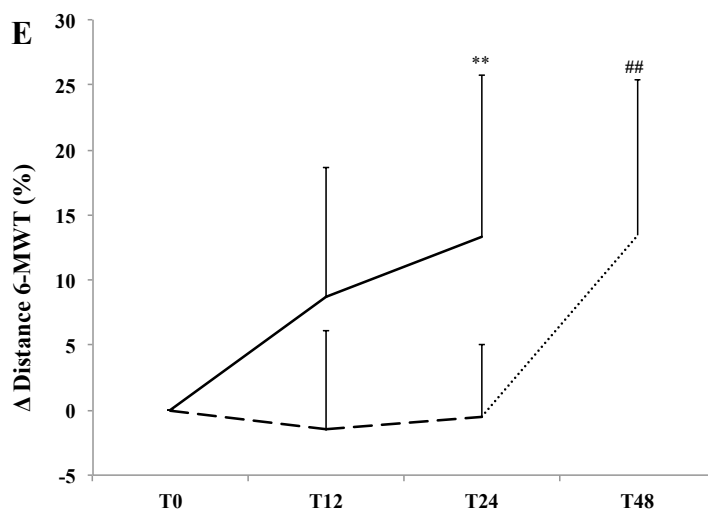
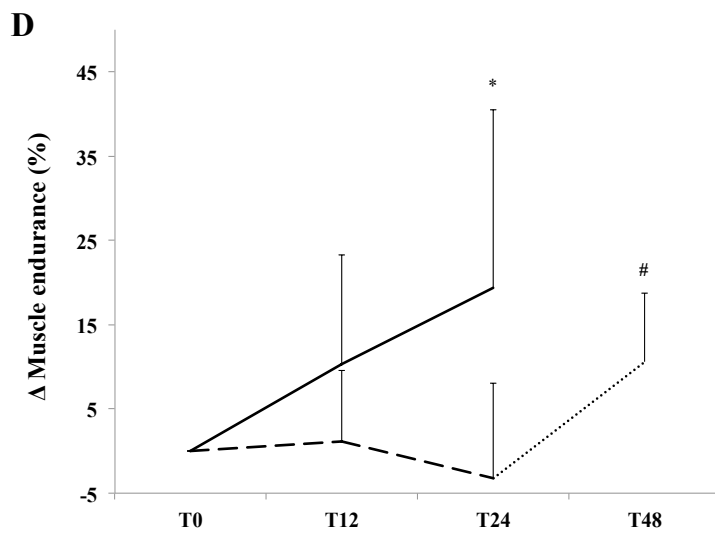


FIGURE 3

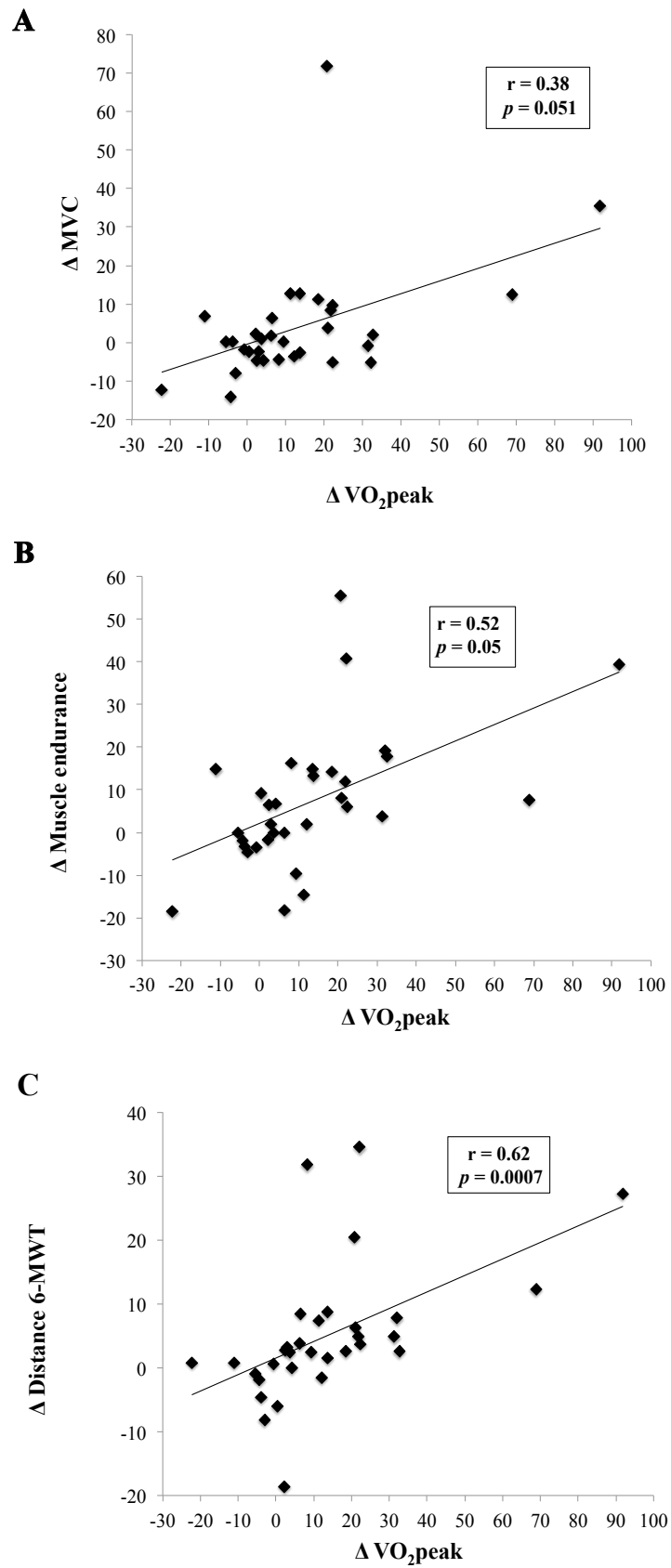


FIGURE 4

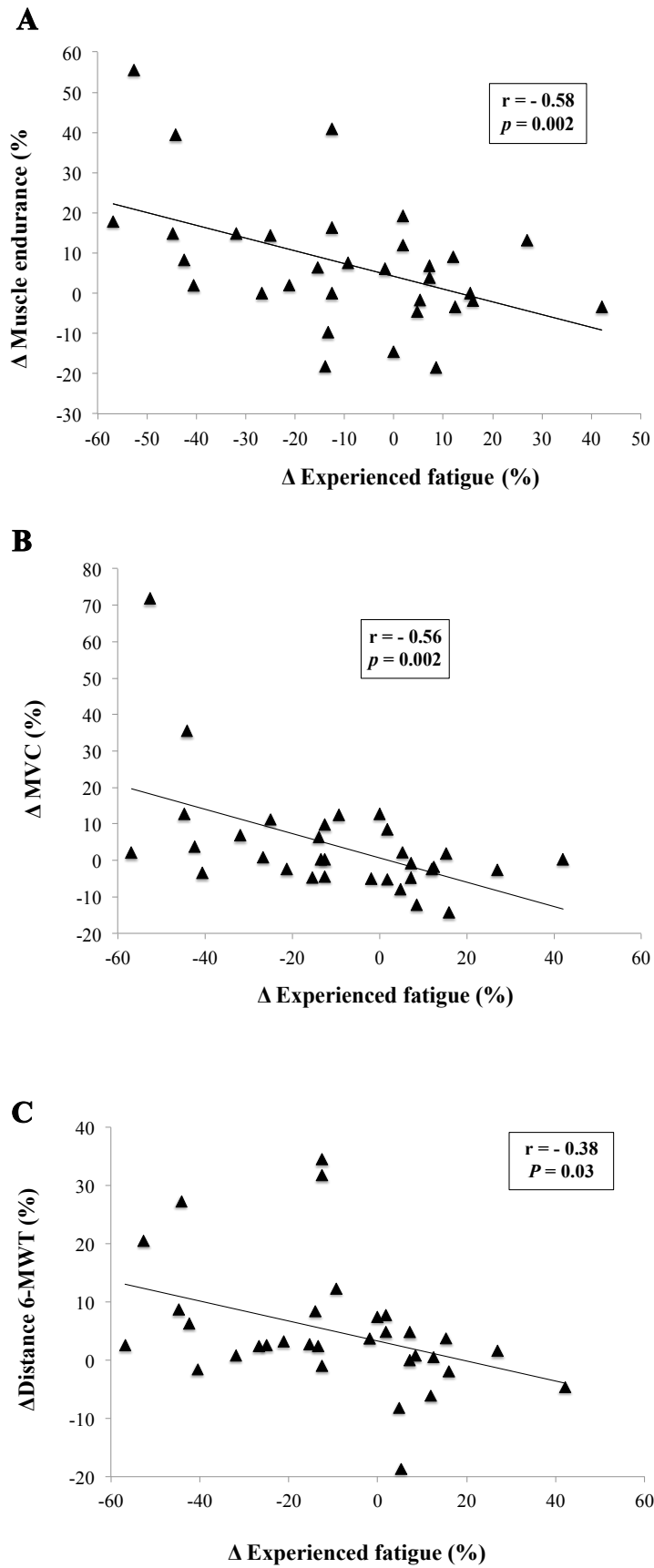


FIGURE 5

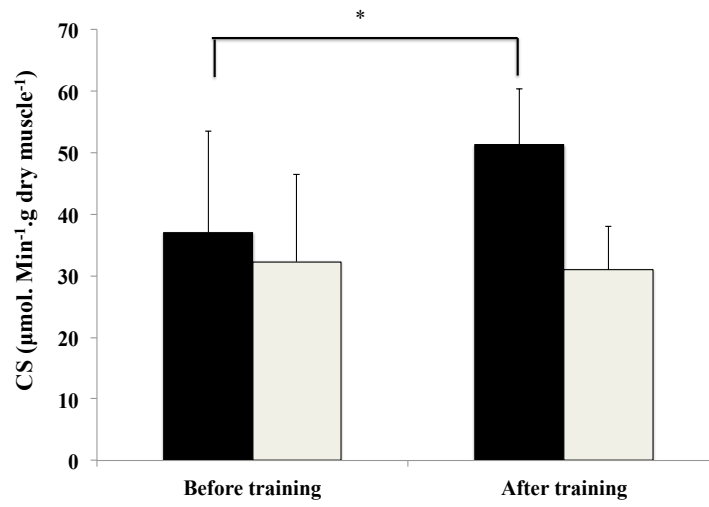
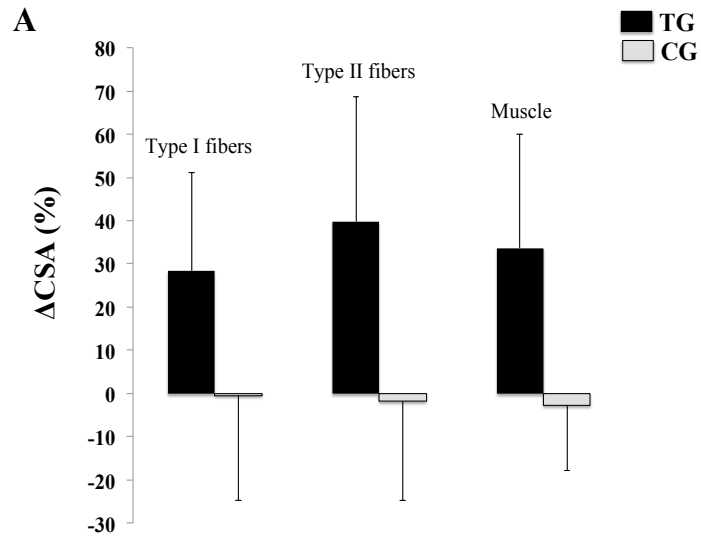


Table 1: Subjects' main characteristics at baseline (T0).

	TG	CG	CTG
Subjects characteristics			
Women + men	3 + 5	1 + 7	1 + 7
Age (yr)	40 ± 13	44 ± 10	44 ± 10
Height (cm)	172 ± 7	177 ± 11	177 ± 11
Body weight (kg)	73 ± 12	72 ± 11	72 ± 11
Resting HR (beat·min ⁻¹)	82 ± 11	76 ± 6	78 ± 6
6-MWT (m)	508 ± 129	571 ± 97	569 ± 103
Maximal cycling test			
MAP (W)	125 ± 79	129 ± 42	129 ± 37
VO ₂ peak (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	27 ± 12	29 ± 7	29 ± 8
Maximal HR (beat·min ⁻¹)	168 ± 17	178 ± 16	177 ± 13
[La] _{max} (mmol·L ⁻¹)	8.7 ± 3.6	9.4 ± 2.5	11 ± 1.7

Mean values ± SD; TG: trained group, CG: control group, MAP: maximal aerobic power, VO₂peak: peak oxygen uptake, [La]_{max}: maximal blood lactate at exhaustion.

Table 2. Quadriceps function and fatigue at Pre (T0), post-12 weeks (T12) and post-24 weeks (T24)

	TG			CG		
	T0	T12	T24	T0	T12	T24
Quadriceps Function						
MVC (Nm)	124±47	125±45	139 ±47* [§]	125 ± 40	124 ± 40	124 ± 40
VA (%)	96 ± 4	96 ± 4	96 ± 2	97 ± 1	97 ± 2	96 ± 2
Tw at rest (Nm)	37 ± 15	35 ± 12	38 ± 13	36 ± 17	34 ± 12	35 ± 15
Quadriceps Fatigue (% baseline after stage 40%)						
DMVC		85 ± 4	86 ± 6	84 ± 8	82 ± 5	84 ± 6
DTw		75 ± 11	77 ± 12	71 ± 14	68 ± 16	71 ± 16

Mean values ± SD; TG: trained group; CG: control group; MVC: maximum voluntary contraction; VA: maximal voluntary activation. Tw: peak single twitch; DMVC is the percentage of resting MVC after the stage 40%; DTw is the percentage of resting MVC after the stage 40%.

* Significant difference compared to T0 ($P < 0.05$); [§] Significant difference compared to controls ($P < 0.05$).

Table 3. Fatigue severity scale (FSS) and quality of life (SF-36).

	TG			CG			CTG	
	T0	T12	T24	T0	T12	T24	T32	T48
FSS	45±10	37±15	34±15*	35 ± 9	32±10	40 ± 11	35±9	31 ± 9*
SF-36 - Sub scores								
<i>Physical health</i>	61±18	63±21	66 ± 19	65±16	64±21	65 ± 20	68±9	66 ± 14
<i>Mental health</i>	60±24	62±36	67 ± 26	63±21	69±19	65 ± 21	64±18	67 ± 24

Data are mean values ± SD, TG: trained group, CG: control group, CTG: control trained group.

*Significant difference compared to T0 ($p < 0.05$).

Table 4: Typology, muscle cross-sectional area and activities from some enzymes measured before and after training program.

	TG		CG	
	T0	T24	T0	T24
Typology (%)				
Type I fibres	48 ± 9	44 ± 10	39 ± 12	42 ± 10
Type II fibres	52 ± 9	56 ± 10	61 ± 12	58 ± 10
Muscle cross sectional area (µm²)				
Type I fibres	5,296 ± 1,153	6,818 ± 2084*	7,453 ± 1,946	7080 ± 2653
Type II fibres	5,455 ± 1,391	7,558 ± 2219*	7,426 ± 2,162	7,145 ± 2540
Whole muscle	5,392 ± 1,165	7,214 ± 2,246*	7,060 ± 1879	7,100 ± 2495
Muscle cross sectional area (%)				
Type I fibres	49	47	50	50
Type II fibres	51	53	50	50
Enzymatic activities (µmmol·min⁻¹·g⁻¹ dry weight)				
CK	1,309 ± 309	1,483 ± 302*	1,118 ± 383	1,035 ± 470
LDH	253 ± 78	231 ± 67	223 ± 59	248 ± 87
CS	37 ± 15	51 ± 14*	32 ± 9	31 ± 87

Data are mean values ± SD, TG: trained group, CG: control group, CS: Citrate synthase, CK: creatine kinase, LDH: Lactate dehydrogenase; * Significant difference compared to T0 ($p < 0.05$).

C. RÉSULTATS ET DISCUSSION GENERALE DE L'ETUDE III

Cette étude de preuve de pertinence de niveau élevé (étude randomisée et contrôlée) met en évidence la possibilité et les bénéfices de l'instauration dans le mode de vie d'une méthode de « thérapie par l'exercice » chez des patients porteurs d'une FSHD, avec une forte tendance à l'amélioration de leur qualité de vie dans les dimensions *vitalité* et *participation sociale*. Cette méthode thérapeutique fait preuve d'innocuité et d'efficacité pour restreindre l'atrophie musculaire, le déconditionnement physique et la fatigue, observés dans cette pathologie.

1. Adhérence au programme d'entraînement

Malgré un programme d'entraînement deux fois plus long (24 semaines) que la majorité des études précédemment réalisées (environ 12 semaines) dans le cadre des MNMs (Olsen et al., 2005; Sveen et al., 2007; Taivassalo et al., 1998; Voet et al., 2013), notre étude rapporte un taux d'adhérence au programme d'entraînement respectivement évalué à 91% et à 83% dans le RCT (TG vs CG) et le UCT (CG vs CTG). Ce niveau d'adhérence élevé observé dans notre étude reste similaire à ceux rapportés dans les précédentes études pourtant plus étroitement suivies puisque réalisées en laboratoire. La réalisation des séances d'entraînement à domicile a certainement libéré les patients de contraintes de temps liées aux contingences de l'équipe scientifique et de l'infrastructure traditionnelle de réhabilitation. La gestion individuelle du temps donne plus de liberté aux patients pour réaliser leurs séances à domicile sans difficulté majeure. Ce résultat significatif de l'adhérence aux séances d'entraînement montre que la mise en oeuvre de cette approche à domicile et supervisée de la thérapie par l'exercice dans cette pathologie semble appropriée.

2. Innocuité du programme d'entraînement

Une des questions récurrentes posées par les spécialistes des maladies neuromusculaires est de savoir si les patients atteints de maladies dystrophiques sont capables de réaliser de l'activité physique à long terme sans porter atteinte à leur santé (physique et mentale) et sans dommage musculaire. Pour répondre à cette question, plusieurs analyses ont été réalisées chez les patients FSHD : le dosage sanguin des CK, les EVA de la douleur et de la fatigue, l'observation histologique du tissu musculaire et le ressenti au travers du questionnaire de qualité de vie. Il en ressort que les valeurs de CK, d'EVA et l'analyse histologique qualitative des préparations HES pré- et post-entraînement, ne présentent aucune différence significative entre les groupes entraînés et contrôles et ni au cours du temps pour les groupes entraînés.

L'absence de modifications structurales significatives dans le muscle des patients FSHD atteste que l'intégrité du sarcolemme n'a pas été atteinte. Ce qui suggère que le programme d'entraînement a été bien toléré par les muscles. De même, les scores globaux, pré- et post-entraînement de *santé mentale* et *santé physique* issus du SF-36 semblent ne pas varier dans l'ensemble, mais présentent des fortes tendances à l'amélioration ($p = 0.06$) dans les dimensions *vitalité* et *participation sociale* (article III, tableau 3). Ce résultat témoigne que l'entraînement semble avoir un impact positif sur la qualité de vie des patients malgré la lourdeur du programme d'entraînement. Ainsi, les résultats de cette étude suggèrent qu'un programme d'entraînement physique à long terme peut être mené sans effets secondaires et avec un impact positif sur la qualité de vie des patients FSHD.

3. Effets de l'entraînement sur les capacités aérobies

Dans la suite de ce manuscrit, nous appellerons VO_{2pic} , la valeur pic de consommation maximale d'oxygène obtenue lors de l'épreuve incrémentale sur bicyclette ergométrique et MAP, la puissance maximale développée par le patient sur bicyclette à VO_{2pic} .

Amélioration de la capacité aérobie

Nos résultats montrent une amélioration significative de la puissance aérobie en réponse à l'entraînement. Ceci est reflété par une augmentation simultanée de VO_{2pic} et de MAP dans les deux groupes (TG et CTG) (Article III ; Figure 2A et 2B). Ces résultats confirment les précédentes conclusions rapportées sur les effets bénéfiques de l'entraînement aérobie dans les MNMs (Olsen et al., 2005; Sveen et al., 2007; Taivassalo et al., 2006; Taivassalo et al., 2001; van der Kooij et al., 2005; Voet et al., 2013; Wright et al., 1996). De surcroît, comparée à la majorité des données de la littérature obtenues chez des patients dystrophiques, l'augmentation de la capacité aérobie observée ici est plus importante (Kierkegaard et al., 2011; Olsen et al., 2005; Orngreen et al., 2005; Sveen et al., 2007; Taivassalo et al., 2006). Après 12 semaines (T12), VO_{2pic} et MAP moyens ont respectivement augmenté de 24% et 42% dans le groupe TG. Ces améliorations sont supérieures à celles obtenues sur la même période (respectivement +16% et +17%) dans la seule étude réalisée en entraînement aérobie chez des patients FSHD (Olsen et al., 2005). Une part d'explication réside dans le niveau physique initial des sujets comme l'ont souligné certains auteurs (Denis, 1994). Effectivement, les patients de notre étude ont un niveau physique initial plus faible que les patients entraînés dans l'étude de l'équipe d'Olsen, (27 vs 33 ml/min/kg⁻¹ ; 125 vs 155 W). Cette différence de niveau au début de l'entraînement explique probablement en partie les

différences de niveau d'amélioration de la puissance aérobie. Cependant, les modalités d'entraînement pourraient être également une raison explicative a ce meilleur résultat. De l'avis de plusieurs auteurs, l'entraînement par interval-training peut apporter des bénéfices plus importants qu'un entraînement continue notamment sur le système cardiorespiratoire (Helgerud et al., 2007; Ronnestad et al., 2014; Skidmore et al., 2012). Ainsi, le choix de l'entraînement mixte proposé dans notre étude (2/3 d'exercices continus + 1/3 d'exercice par interval-training) semble être un élément supplémentaire, responsable de cette meilleure progression de la capacité aérobie comparée de celle rapportée dans l'étude de l'équipe d'Olsen où l'entraînement était exclusivement continu.

Effet de la durée de l'entraînement dans les adaptations cardio-respiratoires

Nos résultats montrent que la puissance aérobie des patients du groupe TG continue d'augmenter au-delà des 12 premières semaines, modérément pour VO_{2pic} et plus significativement pour MAP. A T24, les gains en VO_{2max} et MAP sont respectivement deux fois et trois fois plus importants (29% vs 16% et 58% vs 17%) que ceux observés par l'équipe d'Olsen (Olsen et al., 2005). Ceci montre l'influence du prolongement dans la durée de l'entraînement sur les adaptations cardiorespiratoires chez l'homme (Green et al., 2013; Reid et al., 2005; Serrano-Ostariz et al., 2011), y compris chez les patients FSHD. Nos résultats étendent les conclusions d'adaptations physiologiques rapportées dans les études à court terme chez les patients FSHD en démontrant l'amélioration de leurs capacités aérobies au delà de 12 semaines.

Bénéfices au niveau tissulaire

Généralement, les adaptations en réponse à l'entraînement observées lors des évaluations cardio-respiratoires à l'exercice reflètent des adaptations au niveau tissulaire. Un résultat intéressant de notre étude est une amélioration du potentiel mitochondrial qui se traduit au niveau cellulaire par une amélioration de 46% de l'activité de la Citrate Synthase (CS) à T24, dans le groupe TG (article III ; figure 5B). La CS étant reconnue comme une des enzymes clés de la voie oxydative, l'amélioration de son activité témoigne d'une amélioration du métabolisme aérobie en réponse à l'entraînement aérobie (Charifi et al., 2004b; Vincent et al., 2012). En sachant que l'activité de la CS est prépondérante dans les fibres de type I (Essen et al., 1975), cette amélioration observée chez nos patients peut en théorie être mise en perspective d'une augmentation de surface relative occupée par leurs fibres de type I. Or dans notre étude, la surface relative occupée par les fibres de type I après entraînement diminue

(article III ; tableau 4). Ceci montre que l'augmentation de l'activité enzymatique CS est une adaptation qualitative directe des fibres de type I, et potentiellement de type II, par l'entraînement et non une conséquence secondaire relative à un changement de typologie. Une amélioration de 15% de l'activité créatine phosphokinase (CK) a également été relevée. Cette enzyme joue entre autres, un rôle dans la régulation du métabolisme aérobie (Momken et al., 2005; Saks et al., 1996). L'augmentation simultanée des activités CS et CK renforce l'hypothèse de l'adaptation de la phosphorylation oxydative dans le muscle de ces patients. Ces adaptations tissulaires sont le témoin d'une meilleure extraction et utilisation de l'oxygène par le muscle et corroborent l'amélioration du métabolisme aérobie induite par les 24 semaines d'entraînement chez les patients FSHD. A l'inverse, l'activité de la LDH, enzyme clé de la glycolyse, n'a pas connu de variation significative (article III ; tableau 4).

4. Effets de l'entraînement sur la force musculaire

L'entraînement a aussi induit une amélioration significative de 17% de la force musculaire maximale (article III, figure 2C) du quadriceps (MVC). En cela, nos résultats se distinguent de ceux rapportés dans les rares études en force réalisées chez des patients FSHD (Colson et al., 2010; van der Kooi et al., 2004). Bien que certaines études réalisées sur d'autres types de myopathies rapportent quelques possibles améliorations de la force musculaire (Lindeman et al., 1995; Murphy et al., 2008; van der Kooi et al., 2005; Vignos and Watkins, 1966), les mécanismes qui soutendent le gain de force dans les MNMs restent encore flous. A ce jour, aucune donnée scientifique ne permet de savoir si le gain de force musculaire est dû à des adaptations neuronales, dites centrales et/ou à des adaptations musculaires, dites périphériques. Dans la présente étude, les résultats observés dans les groupes TG et CG montrent que le pourcentage d'activation maximale avant entraînement (%VA) était déjà très élevé (> 95%) confirmant ainsi nos récents résultats (Bachasson et al., 2013b). Sans aucune surprise, aucun effet de l'entraînement n'a été observé sur ce paramètre à T12 et à T24 (article III, tableau 2). Rapporté dans la littérature comme un indicateur fiable de la mesure de l'adaptation neuronale (Bachasson et al., 2013b; Colson et al., 2009; Jubeau et al., 2006), ce résultat suggère que le gain de force musculaire en réponse à l'entraînement mixte chez les patients FSHD n'est pas dû à une adaptation centrale mais plutôt à un changement structural. Cette hypothèse est confirmée par l'analyse du tissu musculaire des patients du groupe TG dont les résultats montrent une augmentation de 34% de la surface de section des fibres (CSA) à T24 (Article III ; figure 5A). La littérature rapporte que l'hypertrophie musculaire joue un rôle important dans le gain de force musculaire (Charifi et al., 2004b; Kadi et al.,

2004b; Murphy et al., 2008; Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2010; Verney et al., 2008a). Ces résultats prouvent que les patients FSHD gardent encore la capacité d'augmenter leur masse musculaire. En revanche, dans le groupe CTG, cet effet de l'entraînement sur la force musculaire du quadriceps n'a pas été observé.

5. Effets de l'entraînement sur la fatigue, l'endurance et la fonction motrice

Dans le contexte des myopathies, la faiblesse musculaire est classiquement décrite comme un manque d'énergie et une fréquente fatigue ressentie, conduisant à une restriction des activités quotidiennes. L'efficacité d'une thérapie par l'exercice peut donc aussi s'apprécier lorsque l'amélioration de la capacité physique et de la force induit une amélioration de la fonction motrice dans les actes de la vie quotidienne. Dans notre étude, des améliorations significatives sur l'endurance musculaire et la fonction motrice ont été observées dans les deux groupes TG et CTG.

Impact de l'entraînement sur l'endurance musculaire

L'endurance musculaire évaluée par le nombre de répétitions de contractions submaximales progressivement croissantes augmente de 19% et 10%, respectivement pour le TG et le CTG (article III ; figure 2D). Cette amélioration de l'endurance musculaire peut s'expliquer par l'amélioration concomitante de la capacité aérobie et de la force musculaire rapportée plus haut. Cette hypothèse est supportée par une corrélation positive significative entre l'endurance musculaire et MAP d'une part ($r = 0,60$; $p = 0,001$) et MVC d'autre part ($r = 0,74$; $p = 0,0001$). Dans une récente étude, il a été rapporté que les deux paramètres endurance musculaire et MVC semblent être corrélés avec les anomalies fonctionnelles observées chez les patients FSHD (Turki et al., 2012). Les mêmes auteurs rapportent la présence d'une perturbation mitochondriale comme l'une des causes importantes à l'origine de la faiblesse et de l'altération de la fonction musculaire (Turki et al., 2012). En conséquence, un traitement visant à corriger ou améliorer la fonction mitochondriale paraît être une solution appropriée pour améliorer la fonction musculaire des patients FSHD. L'augmentation de VO_{2pic} observée dans notre étude suggère une probable activation de la biogenèse mitochondriale en réponse à l'entraînement. Associée à l'augmentation concomitante de l'endurance et de la MVC, cette hypothèse suggère que notre programme d'entraînement devrait aussi conduire à une amélioration de la fonction motrice.

Impact de l'entraînement sur la fonction motrice

Après 24 semaines d'entraînement, la fonction motrice évaluée par le test de marche de 6 minutes (TM-6) est significativement améliorée de 13% dans les deux groupes. Dans le TG, cette amélioration de performance au TM-6 est nettement corrélée aux changements observés en $VO_2\text{pic}$ ($r = 0.62$; $p = 0,0007$) (article III ; figuré 3C), en MVC ($r = 0.67$; $p = 0,0002$) et en endurance musculaire ($r = 0,57$; $p = 0,002$). Ceci suggère que l'amélioration simultanée de $VO_2\text{pic}$, de MVC et d'endurance musculaire semble être une des clés majeures de l'amélioration de la fonction motrice chez le patient FSHD.

Impact de l'entraînement sur la fatigue perçue

Après 24 semaines d'entraînement, la fatigue ressentie par les patients s'est significativement restreinte. Nous avons enregistré une réduction respective de 25% et 22% dans les groupes TG et CTG (article III ; figure 2F). Cette réduction est inversement corrélée à la distance parcourue lors du test de 6 minutes (article III ; figure 2C). Ceci montre l'impact direct de la fatigue chez le patient FSHD sur l'accomplissement d'un effort de marche. De même, la réduction de la fatigue ressentie par le patient est inversement corrélée aux dimensions physique ($r = 0.85$; $p = 0,03$) et mentale ($r = 0.86$; $p = 0,02$) du questionnaire SF-36, suggérant le rôle majeur de cette fatigue sur la qualité de vie. Ces résultats encourageants montrent qu'un programme d'activités physiques adapté mais suffisamment sollicitant peut induire des améliorations dans l'accomplissement des actes de la vie quotidienne.

En revanche, nos résultats n'ont pas rapporté d'effet de l'entraînement sur la fatigue périphérique évaluée par la valeur de l'onde M et des doublets Db10 :100. Cette absence de résultat peut s'expliquer par une grande variabilité inter individuelle associée à un faible nombre de sujets (seulement 6 sujets dont les examens étaient exploitables).

D. CONCLUSION

Dans un champ de la recherche qui manque encore d'études de référence, la présente étude randomisée et contrôlée, de thérapie par l'exercice dans la FSHD apporte des preuves pertinentes pour confirmer et compléter la connaissance des bénéfices que l'on peut attendre d'une activité physique adaptée choisie. Malgré un niveau de sollicitation significatif, la première conclusion majeure est de constater que cet entraînement physique s'est déroulé sans effet secondaire, ni désagrément au niveau du tissu musculaire, ni perturbation de la qualité de vie des patients. L'entraînement combiné en endurance et en exercices fractionnés a amélioré la capacité aérobie (VO_{2pic} et MAP). Des bénéfices de force musculaire, habituellement observés à l'issue de programmes d'entraînement plus spécifiquement en force ont également été rapportés dans notre étude. Ceci laisse penser que ce programme d'entraînement mixte semble être un excellent compromis pour induire ces différents types d'améliorations dont les avantages sont très certainement complémentaires.

Ainsi, ces gains en puissance aérobie et en force musculaire sont non seulement assortis d'adaptations en termes d'endurance musculaire mais aussi de fonction motrice et de tolérance à la fatigue ressentie par le patient. Ceci souligne d'une part l'importance de proposer une intensité de travail suffisamment sollicitant pour induire ces modifications fonctionnelles et d'autre part, l'intérêt d'un entraînement à domicile facilitant l'accès à cette activité physique adaptée. Cela souligne aussi l'importance de l'encadrement pour maintenir une bonne adhérence des patients au programme. La régularité des séances et le contrôle de l'intensité de l'exercice sont deux facteurs clés qui doivent être pris en compte dans la prescription d'une thérapie par l'exercice, quel que soit le type d'entraînement, pour optimiser les adaptations escomptées.

Cette étude a révélé que des patients FSHD sont capables de supporter un entraînement d'assez long terme (plus de 3 mois). De plus, les résultats montrent que ces patients s'améliorent encore au-delà de 3 mois. Si certains paramètres physiologiques comme VO_{2pic} et MAP ont été améliorés très rapidement, dès les 6 premières semaines, il faut remarquer que le transfert de ces adaptations sur les paramètres fonctionnels, tels que la résistance à la fatigue et l'amélioration de la marche (TM-6) n'apparaissent significatifs que plus tardivement, voire à 24 semaines seulement. Cela suggère que la durée du programme d'entraînement est un aussi facteur important à prendre en compte pour apprécier les adaptations physiologiques sur la fonction motrice.

L'efficacité d'une activité physique régulière et contrôlée, mise en évidence dans cette étude pour améliorer le quotidien des patients, revêt un intérêt clinique important et témoigne d'une possibilité innovante à développer. Cependant, pour être transposée à d'autres étiologies de myopathies, la thérapie par l'exercice doit faire l'objet d'autres études complémentaires en appliquant ce concept pratique à d'autres groupes de patients.

En l'état actuel des premiers résultats obtenus lors de cette étude et de leurs interprétations, plusieurs interrogations demeurent et nous incitent à approfondir des analyses du métabolisme énergétique, des processus moléculaires qui supportent le contrôle de la masse musculaire, la vérification du maintien de la qualité intrinsèque du muscle et de sa capacité de régénération. Ainsi, des analyses complémentaires qui nous semblent pertinentes, sont relatées dans le paragraphe suivant des « perspectives » envisagées pour un entraînement à plus ou moins long terme.

E. PERSPECTIVES

1. Perspectives sur l'entraînement encadré à moyen terme (6 mois)

Plusieurs pistes restent encore à explorer au niveau physiologique, cellulaire et moléculaire pour mieux apprécier l'effet de ces 24 semaines d'entraînement mixte « encadré » chez les patients FSHD. Pour compléter les mesures de l'activité de CS, d'autres enzymes directement liés à l'activité de la chaîne respiratoire mitochondriale pourraient être étudiées. Nous proposons notamment l'évaluation histochimique du complexe IV de la chaîne respiratoire, la Cytochrome C Oxydase (COX). En travaillant sur des coupes sériées, l'activité de cette enzyme peut être appréciée de façon spécifique en fonction des différents types de fibres. Parallèlement, il paraît tout à fait pertinent, d'investir l'étude de la microvascularisation de ces muscles myopathes soumis à l'entraînement. La densité capillaire pour une surface de coupe histologique musculaires donnée et plus encore, l'estimation de la surface d'échange disponible entre les compartiments sanguin et musculaire par la mesure de l'indice de tortuosité des capillaires (LC/PF, pour Longueur de Capillaire au contact du Périmètre des Fibres) seraient susceptibles de témoigner de l'adaptation qualitative du muscle à l'exercice. Que ce soit chez le sujet sain jeune ou âgé, sédentaire ou entraîné, ces deux paramètres apparaissent parmi les critères d'adaptation musculaire les plus sensibles à l'activité physique et témoignant d'un meilleur apport tissulaire en oxygène.

A l'échelle cellulaire, l'étude du processus régénératif semble également très pertinente. S'il est vrai que nous n'avons pas observé de dommages musculaires évidents induits par cet entraînement, aucune information n'existe actuellement sur la capacité régénérative de ces muscles, dont le contenu en cellules satellites peut être un excellent témoin. A l'image de la méthodologie que nous avons pu mettre en œuvre dans l'étude I (Bankole et al., 2013) nous envisageons la quantification des cellules satellites, activées ou non et selon leur localisation au sein de leur « niche » sous-matricielle, périvasculaire habituelle ou au contraire déjà engagées dans une « migration » vers un possible processus régénératif en situation extra-matricielle ou à l'inverse intra-myocytaire. L'état d'activation peut être identifié par un marquage immunohistochimique avec l'Ac Ki67, leur localisation sous- ou extra-matricielle par un marquage de la laminine et le degré d'incorporation aux myocytes par un marquage CD56 (Charifi et al., 2003c; Kadi, 2000; Kadi et al., 2005; Kadi et al., 2004b; Mackey et al., 2007a; Mackey et al., 2007b). Notre équipe a déjà pu montrer que l'activation et la prolifération des cellules satellites peuvent résulter d'efforts musculaires aux contraintes

mécaniques d'intensité tout à fait modérée et comparable à celles de l'entraînement mixte proposé dans cette étude (Charifi et al., 2003c).

Au niveau moléculaire, deux types d'évaluation sont envisageables à moyen terme. L'étude des effets de l'entraînement mixte sur la mesure de la longueur des télomères, séquence codante non répétitive (TTAGGG)_n localisée à l'extrémité des chromosomes. Ces télomères apparaissent comme un indicateur de l'histoire répliquative des cellules. En culture cellulaire, ce paramètre renseigne sur le potentiel répliquatif et le nombre de divisions cellulaires déjà effectuées (Allsopp et al., 1992), ou en d'autres termes le « capital répliquatif » déjà « consommé ». L'activité physique lors de certaines pratiques ou selon certaines populations semble être un des stress qui pourrait affecter la longueur télomérique et donc contribuer à l'épuisement de ce capital précieux. Ainsi, une réduction de cette longueur télomérique a été observée chez des athlètes ayant une pratique importante et souffrant d'un syndrome de fatigue chronique, en revanche, aucune réduction n'a été observée chez les personnes pratiquant une activité physique modérée et régulière (Cherkas et al., 2008; Ponsot et al., 2008). Certes, notre programme d'activité physique mixte est modéré, lentement progressif et contrôlé. Etant suffisamment sollicitant pour induire des adaptations physiologiques, métaboliques et fonctionnelles, il apparaît donc important de vérifier que cette contrainte est également tolérée par la cellule musculaire en étudiant ce marqueur télomérique sur le muscle des patients FSHD au terme de leur programme de 24 semaines.

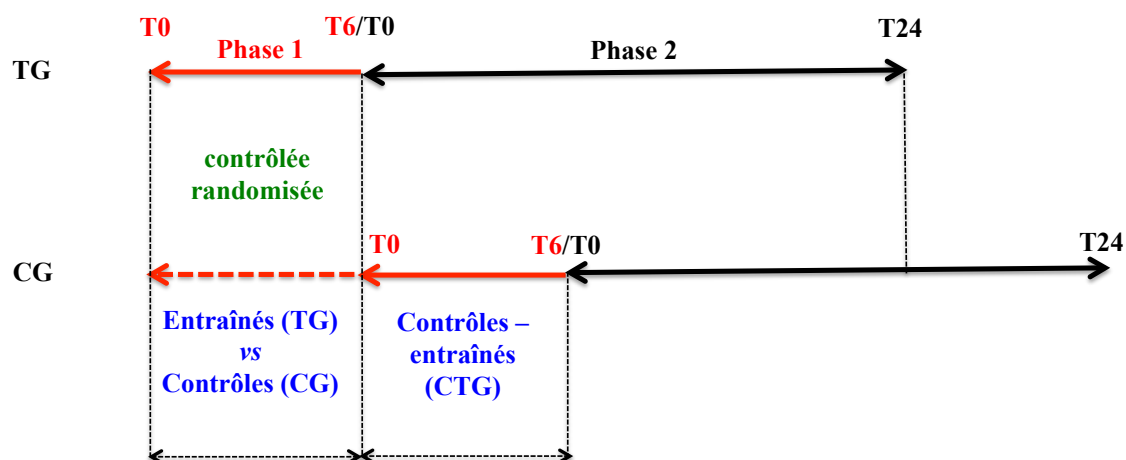
Enfin, les données recueillies au cours de cette étude nous ont permis de mettre en évidence une hypertrophie des fibres musculaires en réponse à l'entraînement chez les patients FSHD. Puisqu'aucune donnée de la littérature ne renseigne sur la possibilité de contrôle de la trophicité myocytaire chez les patients FSHD, il pourrait aussi être intéressant d'étudier les voies de signalisation du contrôle de la masse musculaire (Akt/mTor) et de la biogénèse mitochondriale (PGC-1 α).

2. Perspectives sur l'auto - entraînement à long terme (30 mois)

Au vu des résultats obtenus après cette première période d'activité physique à domicile contrôlée par un suivi rapproché, une des questions qui se pose est de savoir si ce rythme et ce volume d'entraînement (3 x 35 minutes par semaine) peut être envisagé en autonomie par le patient. Peut-on envisager la pérennisation, l'efficacité et l'innocuité de cette thérapie par l'exercice personnalisée et à domicile sur 2 ans supplémentaires ?

C'est pourquoi nous avons envisagé une seconde phase de l'étude consistant à l'observation de l'autonomisation du patient pour la réalisation cet entraînement. Nous avons ainsi proposé

aux 16 participants de la phase 1 de l'étude de poursuivre un auto-entraînement sur 24 mois supplémentaires toujours à domicile mais avec un suivi plus distant et plus espacé dans le temps.



Légendes

←← = Entraînement encadré

←- - - = Sujets non entraînés

↔ = Auto-entraînement

Durée totale (entraînement encadré + auto-entraînement) = 6 + 24 = 30 mois

Figure 29 : Recrutement des patients et durée du programme pour la phase 2 de l'étude en fonction des deux groupes originaux de la phase 1 de l'étude. Sur cette figure le temps est exprimé en mois pour les deux phases 1 et 2 (ex : T6 = 6 mois).

Le programme d'activité physique demeure identique à celui de la phase contrôlée randomisée assorti des mêmes évaluations multidimensionnelles, physiologique, fonctionnelle et la qualité de vie (VO₂pic, MAP, MVC, test de résistance à la fatigue du quadriceps, TM-6 et questionnaires SF-36 et FSS), mais espacées de six mois. Une troisième biopsie du muscle vaste externe est proposée en toute fin de programme, soit à T30 mois d'entraînement. Au cours de cette seconde phase, les sujets, qui ont déjà bénéficié d'analyses par IRM et spectro-RMN au début de phase 1, bénéficient de deux autres séries de ces mêmes évaluations : une seconde à mi-parcours (entre T12 et T18 mois) et une dernière à T30 mois.

Pour cette étude d'observance, le critère principal est le nombre de séances d'entraînement effectuées sur ces 2 ans supplémentaires. Une séance est considérée validée sur la base de deux critères : sa durée et son intensité, colligées sur le carnet d'entraînement mais également contrôlées par les enregistrements obtenus à partir du cycloergomètre et d'un

cardiofréquence. L'inclusion dans cette seconde phase de l'étude a été proposée à l'ensemble des patients ayant participé à la première phase (TG et CG devenu CTG), lors d'une visite d'inclusion initiale similaire (figure 29). Sur les seize patients, quinze ont été inclus et progressent dans l'étude. Le seul patient non inclus a décliné sa participation en raison de sa nouvelle domiciliation géographique très éloignée.

Schéma expérimental

L'ensemble des évaluations unilatérales (CMV, résistance à la fatigue et biopsie de muscle) est réalisé du même côté du corps que celui choisi lors de la première phase. Toutes les évaluations et leur chronologie sont présentées figure 30 ci-après.

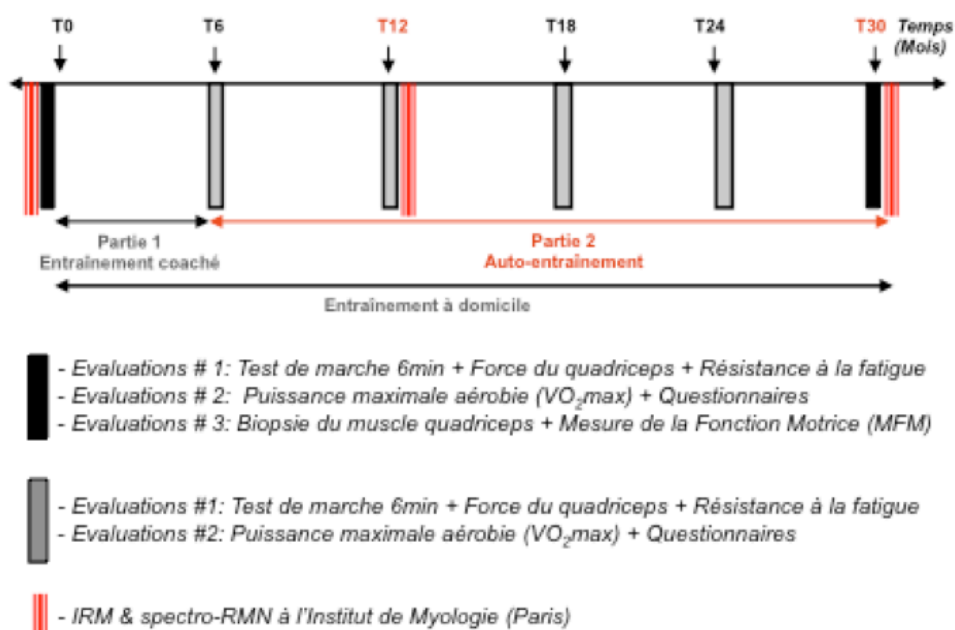


Figure 30 : Chronologie des évaluations durant la phase 2 du programme « Thérapie par l'exercice et FSHD ». Les analyses IRM et spectro-RMN s'ajoutent à celles déjà décrites lors de la phase 1.

La visite d'inclusion et les consentements sont signés dans les 3 semaines suivant la biopsie à 6 mois de la première phase, selon les mêmes principes. Les évaluations à 6 mois post-entraînement coaché à domicile de la première phase, sont considérées comme les valeurs de référence de cette seconde phase. Toutes ces évaluations sont reproduites à l'identique à la fin des 24 mois supplémentaires, c'est-à-dire à 30 mois d'entraînement (T30). Les évaluations non invasives sont réalisées de façon régulière tous les 6 mois (VO_2 max, MAP, TM-6 et questionnaires) ou tous les 12 mois (MVC et résistance à la fatigue). A ces évaluations sont associées des évaluations tissulaires d'imagerie par résonance magnétique (IRM) et de

spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (spectro-RMN) réalisées entre T12 et T18 puis à T30, en sus de ces mêmes investigations déjà réalisées à T0 de la phase 1 (figure 31).

Déroulement du programme d'entraînement

Le contenu du programme est identique à celui de la première phase. Les séances d'entraînement ont débuté la semaine suivant la fin des évaluations initiales, qui correspondent en fait aux évaluations finales de la première phase (figure 30). Même si la supervision de l'entraînement est envisagée avec plus de distance, le coach reste néanmoins entièrement à disposition des patients pour pallier tous problèmes logistiques ou toutes nécessités d'ajustement des exercices. Il effectue quelques contrôles par téléphone pour s'assurer du bon état du matériel et un passage mensuel au domicile des patients pour le recueil des EVA douleur et fatigue générales et des données enregistrées. Il vérifie le matériel et le cas échéant adapte l'intensité d'exercice. Cette adaptation est décidée par l'équipe médicale et guidée par la lecture des enregistrements de fréquence cardiaque obtenus lors des séances d'entraînement et par les évaluations semestrielles de VO₂max et MAP.

Mesures et évaluations par RMN

Les mesures et évaluations sont identiques à celles de la première phase de l'étude avec en sus des analyses musculaires par IRM et spectro-RMN. Pour tous les patients, une première série de ces examens a été réalisée, avant le début de tout entraînement, qu'ils soient issus du groupe contrôlé ou entraîné (figure 30), en référence aux deux autres séries programmées sur cette seconde phase de l'étude. Ces évaluations sont réalisées en collaboration avec le Laboratoire de RMN AIM CEA de l'Institut de Myologie à Paris de l'équipe de Pierre Carlier, possédant l'expertise des méthodologies standardisées et quantifiées de l'IRM corps entier et d'estimation de l'involution adipeuse intra musculaire. Ces deux méthodes, IRM et spectro-RMN permettent une évaluation atraumatique de la structure et de la physiologie cellulaire du muscle strié squelettique que nous pourrions mettre en perspective des données obtenues sur les prélèvements biopsiques.

L'évaluation de la sévérité et de l'étendue du processus dégénératif musculaire est en cours d'évaluation par IRM corps entier pondérée en T1 selon des méthodes précédemment validées (Garrood et al., 2009). La précision de la distribution topographique de ces lésions entre les différents territoires musculaires permettra de faciliter l'orientation diagnostique de cette étiologie (Lamminen, 1990; Mercuri et al., 2002). L'importante sensibilité de détection aux faibles variations de volume de l'IRM quantitative pourrait également confirmer, à l'échelle

des muscles entiers, les résultats obtenus sur les variations de trophicité sous l'effet de l'entraînement et permettre un suivi prospectif à plus long terme, compte tenu du caractère non invasif et donc de la possibilité de répéter l'examen. De plus, cette méthode d'imagerie en acquisition Dixon 3 points peut distinguer la fraction grasseuse du signal musculaire ou par imagerie paramétrique en T2, des processus inflammatoires et nécrotiques (Costa et al., 2008; Hardy et Yue, 1997).

Parallèlement à ces outils, l'estimation de l'état d'involution fibro-adipeuse sera également réalisée sur les prélèvements musculaires déjà obtenus et/ou programmés (biopsies initiale, à 6 mois et à 30 mois). L'étude densitométrique sur clichés numériques de préparations histologiques dédiées à l'observation des gouttelettes de triglycérides (Huile Rouge), selon une méthode sensible et déjà éprouvée dans notre équipe (Ngo *et al.* 2011), permettra de quantifier la sévérité de l'infiltration adipeuse intercellulaire mais aussi intracellulaire souvent significative dans les dystrophies.

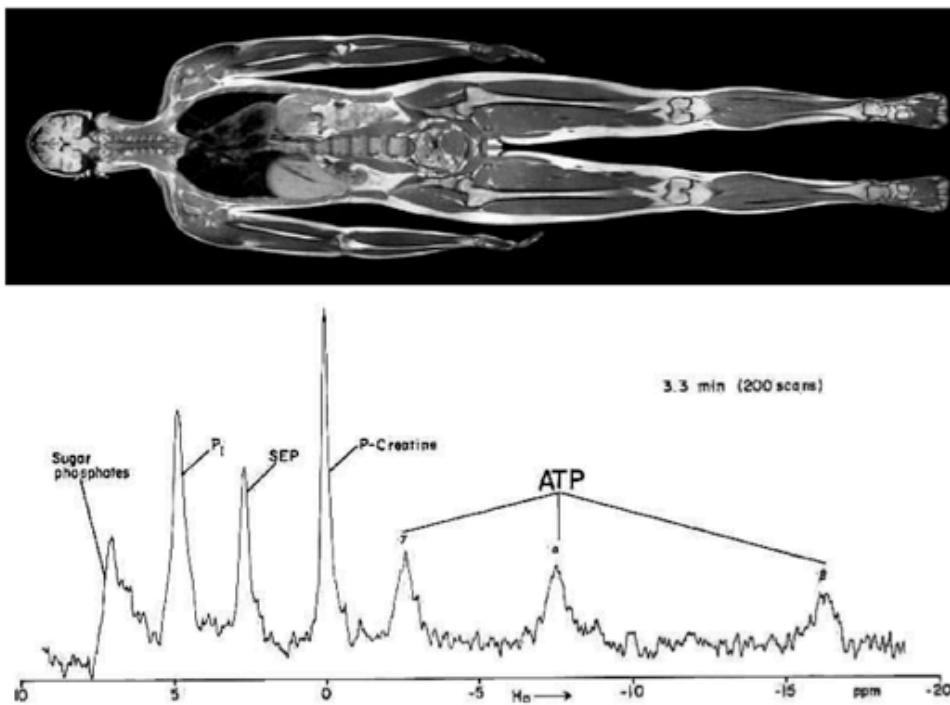


Figure 31 : Caractérisation morphologique, fonctionnelle et cartographie musculaire à partir d'imagerie et spectrométrie par Résonance Magnétique Nucléaire (IRM et Spectro-RMN).

D'un point de vue fonctionnel, la spectro-RMN au P31 complète les informations sur les capacités métaboliques dynamiques du muscle y compris lorsque celui-ci est dystrophique (Kemp et al ; 1993). Des mesures précises permettant d'apprécier la concentration en ATP et les cinétiques de décroissance puis re-croissance des concentrations en phosphocréatine (PCr)

sont également en cours d'acquisition. En phase de récupération, on observe des changements métaboliques inverses avec un retour du pH et des concentrations en métabolites à leurs valeurs initiales. Cette phase est contrôlée par le mécanisme mitochondrial, sans apport anaérobie. De ce fait, l'analyse des cinétiques de récupération du pH et des niveaux en métabolites phosphorylés fournit des renseignements clés sur la fonction oxydative du muscle. Là encore de telles données seront à rapprocher des analyses des modulations métaboliques réalisées sur les prélèvements après 6 ou 30 mois d'entraînement.

Par ailleurs, l'interprétation des données RMN (en imagerie et spectrales) pourrait être en retour améliorée en appréciant leurs possibles corrélations aux données fonctionnelles et tissulaires qui demeurent souvent plus invasives et plus difficiles à accepter. Les analogies que nous pourrions ainsi décrire entre ces différentes méthodes d'explorations seraient précieuses pour l'évaluation musculaire prospective nécessaire à la connaissance de l'histoire naturelle de cette pathologie mais aussi des myopathies plus généralement, et très certainement contributives pour le suivi des moyens thérapeutiques à venir.

BIBLIOGRAPHIE Aagaard, P., Simonsen, E.B., Andersen, J.L., Magnusson, P., Dyhre-Poulsen, P., 2002a. Increased rate of force development and neural drive of human skeletal muscle following resistance training. *J Appl Physiol* (1985) 93, 1318-1326.

Aagaard, P., Simonsen, E.B., Andersen, J.L., Magnusson, P., Dyhre-Poulsen, P., 2002b. Neural adaptation to resistance training: changes in evoked V-wave and H-reflex responses. *J Appl Physiol* (1985) 92, 2309-2318.

Adrian, E.D., Bronk, D.W., 1929. The discharge of impulses in motor nerve fibres: Part II. The frequency of discharge in reflex and voluntary contractions. *J Physiol* 67, i3-151.

Aitkens, S.G., McCrory, M.A., Kilmer, D.D., Bernauer, E.M., 1993. Moderate resistance exercise program: its effect in slowly progressive neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 74, 711-715.

Allen, D.G., Lamb, G.D., Westerblad, H., 2008. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological reviews* 88, 287-332.

Allen, G.M., Gandevia, S.C., McKenzie, D.K., 1995. Reliability of measurements of muscle strength and voluntary activation using twitch interpolation. *Muscle Nerve* 18, 593-600.

Allen, G.M., McKenzie, D.K., Gandevia, S.C., 1998. Twitch interpolation of the elbow flexor muscles at high forces. *Muscle Nerve* 21, 318-328.

Allsopp, R.C., Vaziri, H., Patterson, C., Goldstein, S., Younglai, E.V., Futcher, A.B., Greider, C.W., Harley, C.B., 1992. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 10114-10118.

Amann, M., Eldridge, M.W., Lovering, A.T., Stickland, M.K., Pegelow, D.F., Dempsey, J.A., 2006. Arterial oxygenation influences central motor output and exercise performance via effects on peripheral locomotor muscle fatigue in humans. *J Physiol* 575, 937-952.

Andersen, J.L., Aagaard, P., 2010. Effects of strength training on muscle fiber types and size; consequences for athletes training for high-intensity sport. *Scand J Med Sci Sports* 20 Suppl 2, 32-38.

Andersen, P., Henriksson, J., 1977. Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *J Physiol* 270, 677-690.

Andreacci, J.L., Robertson, R.J., Dube, J.J., Aaron, D.J., Balasekaran, G., Arslanian, S.A., 2004. Comparison of maximal oxygen consumption between black and white prepubertal and pubertal children. *Pediatric research* 56, 706-713.

Arad, M., Adler, Y., Koren-Morag, N., Natanzon, S., Sela, B.A., Ben Dov, I., Shechter, M., Schwammenthal, E., Freimark, D., 2008. Exercise training in advanced heart failure patients: discordance between improved exercise tolerance and unchanged NT-proBNP levels. *International journal of cardiology* 126, 114-119.

Assumpcao Cde, O., Lima, L.C., Oliveira, F.B., Greco, C.C., Denadai, B.S., 2013. Exercise-induced muscle damage and running economy in humans. *TheScientificWorldJournal* 2013, 189149.

Attarian, S., Salort-Campana, E., Nguyen, K., Behin, A., Andoni Urtizberea, J., 2012. Recommendations for the management of facioscapulohumeral muscular dystrophy in 2011. *Rev Neurol (Paris)* 168, 910-918.

Bachasson, D., Millet, G.Y., Decorte, N., Wuyam, B., Levy, P., Verges, S., 2013a. Quadriceps function assessment using an incremental test and magnetic neurostimulation: a reliability study. *J Electromyogr Kinesiol* 23, 649-658.

Bachasson, D., Temesi, J., Bankole, C., Lagrange, E., Boutte, C., Millet, G.Y., Verges, S., Levy, P., Feasson, L., Wuyam, B., 2013b. Assessment of quadriceps strength, endurance and fatigue in FSHD and CMT: Benefits and limits of femoral nerve magnetic stimulation. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*.

Bakker, E., Wijmenga, C., Vossen, R.H., Padberg, G.W., Hewitt, J., van der Wielen, M., Rasmussen, K., Frants, R.R., 1995. The FSHD-linked locus D4F104S1 (p13E-11) on 4q35 has a homologue on 10qter. *Muscle & nerve. Supplement*, S39-44.

Bamman, M.M., Hill, V.J., Adams, G.R., Haddad, F., Wetzstein, C.J., Gower, B.A., Ahmed, A., Hunter, G.R., 2003. Gender differences in resistance-training-induced myofiber hypertrophy among older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 58, 108-116.

Bankole, L.C., Feasson, L., Ponsot, E., Kadi, F., 2013. Fibre type-specific satellite cell content in two models of muscle disease. *Histopathology* 63, 826-832.

Barash, I.A., Peters, D., Fridén, J., Gordon, J.L., Lieber, R.L., 2002. Desmin cytoskeletal modifications after a bout of eccentric exercise in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283, R958-R963.

Barofsky, I., 2012. Why perform a quality or quality-of-life assessment? *Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation* 21, 633-636.

Barry, B.K., Enoka, R.M., 2007. The neurobiology of muscle fatigue: 15 years later. *Integrative and comparative biology* 47, 465-473.

Belanger, A.Y., McComas, A.J., 1981. Extent of motor unit activation during effort. *J Appl Physiol* 51, 1131-1135.

Bellemare, F., Garzaniti, N., 1988. Failure of neuromuscular propagation during human maximal voluntary contraction. *J Appl Physiol* 64, 1084-1093.

Bensoussan, A., Chang, S.W., Menzies, R.G., Talley, N.J., 2001. Application of the general health status questionnaire SF36 to patients with gastrointestinal dysfunction: initial validation and validation as a measure of change. *Australian and New Zealand journal of public health* 25, 71-77.

Berthouze, S.E., Minaire, P.M., Castells, J., Busso, T., Vico, L., Lacour, J.R., 1995. Relationship between mean habitual daily energy expenditure and maximal oxygen uptake. *Med Sci Sports Exerc* 27, 1170-1179.

Bickmore, W.A., van der Maarel, S.M., 2003. Perturbations of chromatin structure in human genetic disease: recent advances. *Hum Mol Genet* 12 Spec No 2, R207-213.

Bigland-Ritchie, B., 1981. EMG/force relations and fatigue of human voluntary contractions. *Exerc Sport Sci Rev* 9, 75-117.

Bigland-Ritchie, B., Furbush, F., Woods, J.J., 1986. Fatigue of intermittent submaximal voluntary contractions: central and peripheral factors. *J Appl Physiol* 61, 421-429.

Bigland-Ritchie, B., Woods, J.J., 1984. Changes in muscle contractile properties and neural control during human muscular fatigue. *Muscle Nerve* 7, 691-699.

Birchmeier, C., Brohmann, H., 2000. Genes that control the development of migrating muscle precursor cells. *Current opinion in cell biology* 12, 725-730.

Blagden, C.S., Hughes, S.M., 1999. Extrinsic influences on limb muscle organisation. *Cell Tissue Res* 296, 141-150.

Bodine, S.C., 2013. Disuse-induced muscle wasting. *The international journal of biochemistry & cell biology*.

Bogdanis, G.C., 2012. Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue. *Frontiers in physiology* 3, 142.

Bogdanis, G.C., Nevill, M.E., Lakomy, H.K., Graham, C.M., Louis, G., 1996. Effects of active recovery on power output during repeated maximal sprint cycling. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 74, 461-469.

Booth, F.W., Roberts, C.K., Laye, M.J., 2012. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Comprehensive Physiology* 2, 1143-1211.

Bosnakovski, D., Lamb, S., Simsek, T., Xu, Z., Belayew, A., Perlingeiro, R., Kyba, M., 2008. DUX4c, an FSHD candidate gene, interferes with myogenic regulators and abolishes myoblast differentiation. *Experimental neurology* 214, 87-96.

Bottinelli, R., 2001. Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story? *Pflugers Arch* 443, 6-17.

Bradley, W.G., Kelemen, J., 1979. Genetic counseling in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2, 325-328.

Brandt, C., Pedersen, B.K., 2010. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. *Journal of biomedicine & biotechnology* 2010, 520258.

Brodal, P., Ingjer, F., Hermansen, L., 1977. Capillary supply of skeletal muscle fibers in untrained and endurance-trained men. *The American journal of physiology* 232, H705-712.

Brohmann, H., Jagla, K., Birchmeier, C., 2000. The role of Lbx1 in migration of muscle precursor cells. *Development (Cambridge, England)* 127, 437-445.

Brown, S.J., Child, R.B., Day, S.H., Donnelly, A.E., 1997. Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci* 15, 215-222.

Bryson-Richardson, R.J., Currie, P.D., 2008. The genetics of vertebrate myogenesis. *Nature reviews. Genetics* 9, 632-646.

Buckingham, M., 2006. Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. *Current opinion in genetics & development* 16, 525-532.

Buckingham, M., Bajard, L., Chang, T., Daubas, P., Hadchouel, J., Meilhac, S., Montarras, D., Rocancourt, D., Relaix, F., 2003. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. *J Anat* 202, 59-68.

Buckingham, M., Relaix, F., 2007. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. *Annual review of cell and developmental biology* 23, 645-673.

Bunch, W.H., Siegel, I.M., 1993. Scapulothoracic arthrodesis in facioscapulohumeral muscular dystrophy. Review of seventeen procedures with three to twenty-one-year follow-up. *The Journal of bone and joint surgery. American volume* 75, 372-376.

Burgomaster, K.A., Heigenhauser, G.J., Gibala, M.J., 2006. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. *J Appl Physiol* 100, 2041-2047.

Burgomaster, K.A., Moore, D.R., Schofield, L.M., Phillips, S.M., Sale, D.G., Gibala, M.J., 2003. Resistance training with vascular occlusion: metabolic adaptations in human muscle. *Med Sci Sports Exerc* 35, 1203-1208.

Burke, R.E., Levine, D.N., Tsairis, P., Zajac, F.E., 3rd, 1973. Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius. *J Physiol* 234, 723-748.

Bushby, K., Muntoni, F., Bourke, J.P., 2003. 107th ENMC international workshop: the management of cardiac involvement in muscular dystrophy and myotonic dystrophy. 7th-9th June 2002, Naarden, the Netherlands. *Neuromuscul Disord* 13, 166-172.

Cabric, M., James, N.T., 1983. Morphometric analyses on the muscles of exercise trained and untrained dogs. *The American journal of anatomy* 166, 359-368.

Campbell, E.L., Seynnes, O.R., Bottinelli, R., McPhee, J.S., Atherton, P.J., Jones, D.A., Butler-Browne, G., Narici, M.V., 2013. Skeletal muscle adaptations to physical inactivity and subsequent retraining in young men. *Biogerontology* 14, 247-259.

Charifi, N., Kadi, F., Feasson, L., Costes, F., Geysant, A., Denis, C., 2004a. Enhancement of microvessel tortuosity in the vastus lateralis muscle of old men in response to endurance training. *The Journal of Physiology* 554, 559-569.

Charifi, N., Kadi, F., Feasson, L., Costes, F., Geysant, A., Denis, C., 2004b. Enhancement of microvessel tortuosity in the vastus lateralis muscle of old men in response to endurance training. *J Physiol* 554, 559-569.

Charifi, N., Kadi, F., Féasson, L., Costes, F., Geysant, A., Denis, C., 2004c. Enhancement of microvessel tortuosity in the vastus lateralis muscle of old men in response to endurance training. *J. Physiol. (London)* 554, 559-569.

Charifi, N., Kadi, F., Feasson, L., Denis, C., 2003a. Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle Nerve* 28, 87-92.

Charifi, N., Kadi, F., Feasson, L., Denis, C., 2003b. Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle Nerve* 28, 87-92.

Charifi, N., Kadi, F., Féasson, L., Denis, C., 2003c. Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle Nerve* 28, 87-92.

Chen, T.C., Chen, H.L., Pearce, A.J., Nosaka, K., 2012. Attenuation of eccentric exercise-induced muscle damage by preconditioning exercises. *Med Sci Sports Exerc* 44, 2090-2098.

Cherkas, L.F., Hunkin, J.L., Kato, B.S., Richards, J.B., Gardner, J.P., Surdulescu, G.L., Kimura, M., Lu, X., Spector, T.D., Aviv, A., 2008. The association between physical activity in leisure time and leukocyte telomere length. *Arch Intern Med* 168, 154-158.

Chesler, N.C., Durfee, W.K., 1997. Surface EMG as a fatigue indicator during FES-induced isometric muscle contractions. *J Electromyogr Kinesiol* 7, 27-37.

Cheung, K., Hume, P., Maxwell, L., 2003. Delayed onset muscle soreness : treatment strategies and performance factors. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 33, 145-164.

Christ, B., Ordahl, C.P., 1995. Early stages of chick somite development. *Anatomy and embryology* 191, 381-396.

Clamann, H.P., 1993. Motor unit recruitment and the gradation of muscle force. *Physical therapy* 73, 830-843.

Clapp, J., Mitchell, L.M., Bolland, D.J., Fantes, J., Corcoran, A.E., Scotting, P.J., Armour, J.A., Hewitt, J.E., 2007. Evolutionary conservation of a coding function for D4Z4, the tandem DNA repeat mutated in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 81, 264-279.

Clarkson, M.P., Tremblay, I., 1988. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans. *Journal of Applied Physiology* 65, 1-6.

Clarkson, P.M., Byrnes, W.C., Gillis, E., Harper, E., 1987. Adaptation to exercise-induced muscle damage. *Clinical science (London, England : 1979)* 73, 383-386.

Clarkson, P.M., Nosaka, K., Braun, B., 1992. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med Sci Sports Exerc* 24, 512-520.

Coers, C., 1959. Structural organization of the motor nerve endings in mammalian muscle spindles and other striated muscle fibers. *American journal of physical medicine* 38, 166-175.

Collins, C.A., 2006. Satellite cell self-renewal. *Current opinion in pharmacology* 6, 301-306.

Colson, S.S., Benchortane, M., Tanant, V., Faghan, J.P., Fournier-Mehouas, M., Benaim, C., Desnuelle, C., Sacconi, S., 2010. Neuromuscular electrical stimulation training: a safe and effective treatment for facioscapulohumeral muscular dystrophy patients. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 91, 697-702.

Colson, S.S., Martin, A., Van Hoecke, J., 2009. Effects of electromyostimulation versus voluntary isometric training on elbow flexor muscle strength. *J Electromyogr Kinesiol* 19, e311-319.

Condon, K., Silberstein, L., Blau, H.M., Thompson, W.J., 1990. Development of muscle fiber types in the prenatal rat hindlimb. *Developmental biology* 138, 256-274.

Conley, D.L., Krahenbuhl, G.S., 1980. Running economy and distance running performance of highly trained athletes. *Med Sci Sports Exerc* 12, 357-360.

Cossu, G., Biressi, S., 2005. Satellite cells, myoblasts and other occasional myogenic progenitors: possible origin, phenotypic features and role in muscle regeneration. *Seminars in cell & developmental biology* 16, 623-631.

Cossu, G., Tajbakhsh, S., Buckingham, M., 1996. How is myogenesis initiated in the embryo? *Trends in genetics : TIG* 12, 218-223.

Cramer, R.M., Langberg, H., Magnusson, P., Jensen, C.H., Schroder, H.D., Olesen, J.L., Suetta, C., Teisner, B., Kjaer, M., 2004. Changes in satellite cells in human skeletal muscle after a single bout of high intensity exercise. *J Physiol* 558, 333-340.

Cup, E.H., Pieterse, A.J., Ten Broek-Pastoor, J.M., Munneke, M., van Engelen, B.G., Hendricks, H.T., van der Wilt, G.J., Oostendorp, R.A., 2007. Exercise therapy and other types of physical therapy for patients with neuromuscular diseases: a systematic review. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 88, 1452-1464.

Davies, C.T.M., White, M.J., 1981. Muscle weakness following eccentric work in man. *Pflügers Archives European Journal of Physiology* 392, 168-171.

Davis, J.A., Vodak, P., Wilmore, J.H., Vodak, J., Kurtz, P., 1976. Anaerobic threshold and maximal aerobic power for three modes of exercise. *J Appl Physiol* 41, 544-550.

de Boer, M.D., Selby, A., Atherton, P., Smith, K., Seynnes, O.R., Maganaris, C.N., Maffulli, N., Movin, T., Narici, M.V., Rennie, M.J., 2007. The temporal responses of protein synthesis, gene expression and cell signalling in human quadriceps muscle and patellar tendon to disuse. *J Physiol* 585, 241-251.

De Harven, E., Coers, C., 1959. Electron microscope study of the human neuromuscular junction. *J Biophys Biochem Cytol* 6, 7-10.

de Visser, M., de Voogt, W.G., la Riviere, G.V., 1992. The heart in Becker muscular dystrophy, facioscapulohumeral dystrophy, and Bethlem myopathy. *Muscle Nerve* 15, 591-596.

Deak, K.L., Lemmers, R.J., Stajich, J.M., Klooster, R., Tawil, R., Frants, R.R., Speer, M.C., van der Maarel, S.M., Gilbert, J.R., 2007. Genotype-phenotype study in an FSHD family with a proximal deletion encompassing p13E-11 and D4Z4. *Neurology* 68, 578-582.

Degens, H., Kosar, S.N., Hopman, M.T., de Haan, A., 2008. The time course of denervation-induced changes is similar in soleus muscles of adult and old rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 33, 299-308.

Del Coso, J., Gonzalez-Millan, C., Salinero, J.J., Abian-Vicen, J., Soriano, L., Garde, S., Perez-Gonzalez, B., 2012. Muscle damage and its relationship with muscle fatigue during a half-iron triathlon. *PloS one* 7, e43280.

Denis, C.a.J.C.C., 1994. Adaptabilité du sujet âgé à l'entraînement à l'exercice d'endurance. *Science et Sport* 9, 209-213. .

Dhawan, J., Rando, T.A., 2005. Stem cells in postnatal myogenesis: molecular mechanisms of satellite cell quiescence, activation and replenishment. *Trends in cell biology* 15, 666-673.

Dideriksen, K., Reitelseder, S., Holm, L., 2013. Influence of amino acids, dietary protein, and physical activity on muscle mass development in humans. *Nutrients* 5, 852-876.

Dietrich, S., Abou-Rebyeh, F., Brohmann, H., Blatt, F., Sonnenberg-Riethmacher, E., Yamaai, T., Lumsden, A., Brand-Saberi, B., Birchmeier, C., 1999. The role of SF/HGF and c-Met in the development of skeletal muscle. *Development (Cambridge, England)* 126, 1621-1629.

Dipasquale, D.M., Bloch, R.J., Lovering, R.M., 2011. Determinants of the repeated-bout effect after lengthening contractions. *Am J Phys Med Rehabil* 90, 816-824.

Dixit, M., Anseu, E., Tassin, A., Winokur, S., Shi, R., Qian, H., Sauvage, S., Matteotti, C., van Acker, A.M., Leo, O., Figlewicz, D., Barro, M., Laoudj-Chenivresse, D., Belayew, A., Coppee, F., Chen, Y.W., 2007. DUX4, a candidate gene of facioscapulohumeral muscular dystrophy, encodes a transcriptional activator of PITX1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 18157-18162.

Dreyer, H.C., Blanco, C.E., Sattler, F.R., Schroeder, E.T., Wiswell, R.A., 2006a. Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle Nerve* 33, 242-253.

Dreyer, H.C., Fujita, S., Cadenas, J.G., Chinkes, D.L., Volpi, E., Rasmussen, B.B., 2006b. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *J Physiol* 576, 613-624.

Duchateau, J., Enoka, R.M., 2011. Human motor unit recordings: origins and insight into the integrated motor system. *Brain research* 1409, 42-61.

Duchenne (de Boulogne), G., 1868. Recherches sur la paralysie musculaire pseudo-hypertrophique et paralysie myosclérosique. *Arch Gén Méd* 11, 305,421-552.

Duxson, M.J., Usson, Y., Harris, A.J., 1989. The origin of secondary myotubes in mammalian skeletal muscles: ultrastructural studies. *Development (Cambridge, England)* 107, 743-750.

Eagle, M., 2002. Report on the muscular dystrophy campaign workshop: exercise in neuromuscular diseases Newcastle, January 2002. *Neuromuscul Disord* 12, 975-983.

Edman, K.A., Reggiani, C., Schiaffino, S., te Kronnie, G., 1988. Maximum velocity of shortening related to myosin isoform composition in frog skeletal muscle fibres. *J Physiol* 395, 679-694.

Edwards, R.H., 1981. Human muscle function and fatigue. *Ciba Foundation symposium* 82, 1-18.

Edwards, R.H., Hill, D.K., Jones, D.A., Merton, P.A., 1977. Fatigue of long duration in human skeletal muscle after exercise. *J Physiol* 272, 769-778.

El Mhandi, L., Millet, G.Y., Calmels, P., Richard, A., Oullion, R., Gautheron, V., Feasson, L., 2008. Benefits of interval-training on fatigue and functional capacities in Charcot-Marie-Tooth disease. *Muscle & Nerve* 37, 601-610.

Emery, A.E., 1998. The muscular dystrophies. *BMJ (Clinical research ed.)* 317, 991-995.

Emery, A.E., 2002. The muscular dystrophies. *Lancet* 359, 687-695.

Enoka, R.M., Stuart, D.G., 1992. Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol* 72, 1631-1648.

Epstein, J.A., Shapiro, D.N., Cheng, J., Lam, P.Y., Maas, R.L., 1996. Pax3 modulates expression of the c-Met receptor during limb muscle development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 4213-4218.

Essen, B., Jansson, E., Henriksson, J., Taylor, A.W., Saltin, B., 1975. Metabolic characteristics of fibre types in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 95, 153-165.

Evans, W.J., 2010. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. *The American journal of clinical nutrition* 91, 1123S-1127S.

Faber, L.G., Maurits, N.M., Lorist, M.M., 2012. Mental fatigue affects visual selective attention. *PloS one* 7, e48073.

Farup, J., Kjolhede, T., Sorensen, H., Dalgas, U., Moller, A.B., Vestergaard, P.F., Ringgaard, S., Bojsen-Moller, J., Vissing, K., 2012. Muscle morphological and strength adaptations to endurance vs. resistance training. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association* 26, 398-407.

Favier, F.B., Benoit, H., Freyssenet, D., 2008. Cellular and molecular events controlling skeletal muscle mass in response to altered use. *Pflugers Arch* 456, 587-600.

Feasson, L., Camdessanche, J.P., El Mandhi, L., Calmels, P., Millet, G.Y., 2006. Fatigue and neuromuscular diseases. *Annales de readaptation et de medecine physique : revue scientifique de la Societe francaise de reeducation fonctionnelle de readaptation et de medecine physique* 49, 289-300, 375-284.

Feasson, L., Stockholm, D., Freyssenet, D., Richard, I., Duguez, S., Beckmann, J.S., Denis, C., 2002. Molecular adaptations of neuromuscular disease-associated proteins in response to eccentric exercise in human skeletal muscle. *J. Physiol.* 543, 297-306.

Feasson, L., Verney, J., Kadi, F., Gautheron, V., Calmels, P., Millet, G.Y., 2010a. [Exercise therapy and myopathies]. *Rev Neurol (Paris)* 166, 269-278.

Feasson, L., Verney, J., Kadi, F., Gautheron, V., Calmels, P., Millet, G.Y., 2010b. [Exercise therapy and myopathies]. *Rev Neurol (Paris)* 166, 269-278.

- Fellmann, N., 1969. [Physical therapy of neurological diseases]. *Bibliotheca psychiatrica et neurologica* 139, 16-27.
- Ferrando, A.A., Tipton, K.D., Bamman, M.M., Wolfe, R.R., 1997. Resistance exercise maintains skeletal muscle protein synthesis during bed rest. *J Appl Physiol* 82, 807-810.
- Fisk, J.D., Ritvo, P.G., Ross, L., Haase, D.A., Marrie, T.J., Schlech, W.F., 1994. Measuring the functional impact of fatigue: initial validation of the fatigue impact scale. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 18 Suppl 1, S79-83.
- Fitch, S., McComas, A., 1985. Influence of human muscle length on fatigue. *J Physiol* 362, 205-213.
- Fluck, M., Hoppeler, H., 2003. Molecular basis of skeletal muscle plasticity--from gene to form and function. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* 146, 159-216.
- Fowler, W.M., Jr., 2002. Role of physical activity and exercise training in neuromuscular diseases. *Am J Phys Med Rehabil* 81, S187-195.
- Freysenet, D., 2006. Cellular and molecular mechanisms regulating skeletal muscle mass during strength training. *Science & Sports Volume* 21, 74-79.
- Fridén, J., 1984. Muscle soreness after exercise : Implications of morphological changes. *International Journal of Sports Medicine* 5, 57-66.
- Fridén, J., Lieber, R.L., 1992. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 24, 521-530.
- Gabellini, D., D'Antona, G., Moggio, M., Prella, A., Zecca, C., Adami, R., Angeletti, B., Ciscato, P., Pellegrino, M.A., Bottinelli, R., Green, M.R., Tupler, R., 2006. Facioscapulohumeral muscular dystrophy in mice overexpressing FRG1. *Nature* 439, 973-977.
- Gabellini, D., Green, M.R., Tupler, R., 2002. Inappropriate gene activation in FSHD: a repressor complex binds a chromosomal repeat deleted in dystrophic muscle. *Cell* 110, 339-348.
- Gandevia, S.C., 2001. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological reviews* 81, 1725-1789.
- Gibala, M.J., Little, J.P., van Essen, M., Wilkin, G.P., Burgomaster, K.A., Safdar, A., Raha, S., Tarnopolsky, M.A., 2006. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J Physiol* 575, 901-911.
- Gilardeau, C., 2001. Travail actif et maladies neuromusculaires. *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique* 44, 133-148.
- Gilbert, J.R., Stajich, J.M., Wall, S., Carter, S.C., Qiu, H., Vance, J.M., Stewart, C.S., Speer, M.C., Pufky, J., Yamaoka, L.H., et al., 1993. Evidence for heterogeneity in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Am J Hum Genet* 53, 401-408.
- Gollnick, P.D., Armstrong, R.B., Saubert, C.W.t., Piehl, K., Saltin, B., 1972. Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J Appl Physiol* 33, 312-319.
- Gordon, A.M., Huxley, A.F., Julian, F.J., 1966a. Tension development in highly stretched vertebrate muscle fibres. *J Physiol* 184, 143-169.
- Gordon, A.M., Huxley, A.F., Julian, F.J., 1966b. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J Physiol* 184, 170-192.
- Graves, J.E., Clarkson, P.M., Litchfield, P., Kirwan, J.P., Norton, J.P., 1987. Serum creatine kinase activity following repeated bouts of isometric exercise with different muscle groups. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 56, 657-661.
- Green, H.J., Burnett, M., Carter, S., Jacobs, I., Ranney, D., Smith, I., Tupling, S., 2013. Role of exercise duration on metabolic adaptations in working muscle to short-term moderate-to-heavy aerobic-based cycle training. *Eur J Appl Physiol* 113, 1965-1978.

Gros, J., Scaal, M., Marcelle, C., 2004. A two-step mechanism for myotome formation in chick. *Developmental cell* 6, 875-882.

Gross, M.K., Moran-Rivard, L., Velasquez, T., Nakatsu, M.N., Jagla, K., Goulding, M., 2000. Lbx1 is required for muscle precursor migration along a lateral pathway into the limb. *Development (Cambridge, England)* 127, 413-424.

Grounds, M.D., 1999. Muscle regeneration: molecular aspects and therapeutic implications. *Curr Opin Neurol* 12, 535-543.

Gussoni, E., Soneoka, Y., Strickland, C.D., Buzney, E.A., Khan, M.K., Flint, A.F., Kunkel, L.M., Mulligan, R.C., 1999. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401, 390-394.

Hanaoka, B.Y., Peterson, C.A., Horbinski, C., Crofford, L.J., 2012. Implications of glucocorticoid therapy in idiopathic inflammatory myopathies. *Nature reviews. Rheumatology* 8, 448-457.

Harber, M., Trappe, S., 2008. Single muscle fiber contractile properties of young competitive distance runners. *J Appl Physiol* 105, 629-636.

Hawke, T.J., Garry, D.J., 2001. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* 91, 534-551.

Hawley, J.A., Noakes, T.D., 1992. Peak power output predicts maximal oxygen uptake and performance time in trained cyclists. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 65, 79-83.

Helgerud, J., Hoydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., Simonsen, T., Helgesen, C., Hjørth, N., Bach, R., Hoff, J., 2007. Aerobic high-intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc* 39, 665-671.

Henriksson, K.G., 1979. Semi-open muscle biopsy technique: A simple outpatient procedure. *Acta Neurologica Scandinavica* 59, 317-323.

Hermans, M.C., Pinto, Y.M., Merkies, I.S., de Die-Smulders, C.E., Crijns, H.J., Faber, C.G., 2010. Hereditary muscular dystrophies and the heart. *Neuromuscul Disord* 20, 479-492.

Hewitt, J.E., Lyle, R., Clark, L.N., Valleley, E.M., Wright, T.J., Wijmenga, C., van Deutekom, J.C., Francis, F., Sharpe, P.T., Hofker, M., et al., 1994. Analysis of the tandem repeat locus D4Z4 associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 3, 1287-1295.

Hjollund, N.H., Andersen, J.H., Bech, P., 2007. Assessment of fatigue in chronic disease: a bibliographic study of fatigue measurement scales. *Health and quality of life outcomes* 5, 12.

Hodgson, M., Docherty, D., Robbins, D., 2005. Post-activation potentiation: underlying physiology and implications for motor performance. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 35, 585-595.

Hoffman, M.D., Ingwerson, J.L., Rogers, I.R., Hew-Butler, T., Stuempfle, K.J., 2012. Increasing creatine kinase concentrations at the 161-km Western States Endurance Run. *Wilderness & environmental medicine* 23, 56-60.

Hood, D.A., Saleem, A., 2007. Exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 17, 332-337.

Hood, M.S., Little, J.P., Tarnopolsky, M.A., Myslik, F., Gibala, M.J., 2011. Low-volume interval training improves muscle oxidative capacity in sedentary adults. *Med Sci Sports Exerc* 43, 1849-1856.

Hoppeler, H., 1986. Exercise-induced ultrastructural changes in skeletal muscle. *International journal of sports medicine* 7, 187-204.

Horska, A., Fishbein, K.W., Fleg, J.L., Spencer, R.G., 2000. The relationship between creatine kinase kinetics and exercise intensity in human forearm is unchanged by age. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279, E333-339.

Hortobagyi, T., Barrier, J., Beard, D., Braspeninx, J., Koens, P., Devita, P., Dempsey, L., Lambert, J., 1996. Greater initial adaptations to submaximal muscle lengthening than maximal shortening. *J Appl Physiol* 81, 1677-1682.

Hortobagyi, T., Houmard, J., Fraser, D., Dudek, R., Lambert, J., Tracy, J., 1998. Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise. *J Appl Physiol* 84, 492-498.

Hortobagyi, T., Maffiuletti, N.A., 2011. Neural adaptations to electrical stimulation strength training. *Eur J Appl Physiol* 111, 2439-2449.

Howatson, G., Hoad, M., Goodall, S., Tallent, J., Bell, P.G., French, D.N., 2012. Exercise-induced muscle damage is reduced in resistance-trained males by branched chain amino acids: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 9, 20.

Hunter, S.K., 2009. Sex differences and mechanisms of task-specific muscle fatigue. *Exerc Sport Sci Rev* 37, 113-122.

Hunter, S.K., Enoka, R.M., 2001. Sex differences in the fatigability of arm muscles depends on absolute force during isometric contractions. *J Appl Physiol* 91, 2686-2694.

Huxley, H., Hanson, J., 1954. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature* 173, 973-976.

Illa, I., Leon-Monzon, M., Dalakas, M.C., 1992. Regenerating and denervated human muscle fibers and satellite cells express neural cell adhesion molecule recognized by monoclonal antibodies to natural killer cells. *Annals of neurology* 31, 46-52.

Ishimoto, S., Goto, I., Ohta, M., Kuroiwa, Y., 1983. A quantitative study of the muscle satellite cells in various neuromuscular disorders. *J Neurol Sci* 62, 303-314.

Isner-Horobeti, M.E., Dufour, S.P., Vautravers, P., Geny, B., Coudeyre, E., Richard, R., 2013. Eccentric exercise training: modalities, applications and perspectives. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 43, 483-512.

Johnson, E.W., Braddom, R., 1971. Over-work weakness in facioscapulothoracic muscular dystrophy. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 52, 333-336.

Jones, D.A., Bigland-Ritchie, B., Edwards, R.H., 1979. Excitation frequency and muscle fatigue: mechanical responses during voluntary and stimulated contractions. *Experimental neurology* 64, 401-413.

Jouliak-Ekaza, D., Cabello, G., 2006. Myostatin regulation of muscle development: molecular basis, natural mutations, pathophysiological aspects. *Experimental cell research* 312, 2401-2414.

Jubeau, M., Zory, R., Gondin, J., Martin, A., Maffiuletti, N.A., 2006. Late neural adaptations to electrostimulation resistance training of the plantar flexor muscles. *Eur J Appl Physiol* 98, 202-211.

Kadi, F., 2000. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum* 646, 1-52.

Kadi, F., Bonnerud, P., Eriksson, A., Thornell, L.E., 2000. The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic-anabolic steroids. *Histochem Cell Biol* 113, 25-29.

Kadi, F., Charifi, N., Denis, C., Lexell, J., Andersen, J.L., Schjerling, P., Olsen, S., Kjaer, M., 2005. The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? *Pflugers Arch* 451, 319-327.

Kadi, F., Charifi, N., Henriksson, J., 2006. The number of satellite cells in slow and fast fibres from human vastus lateralis muscle. *Histochem Cell Biol* 126, 83-87.

Kadi, F., Eriksson, A., Holmner, S., Butler-Browne, G.S., Thornell, L.E., 1999. Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochem Cell Biol* 111, 189-195.

- Kadi, F., Johansson, F., Johansson, R., Sjostrom, M., Henriksson, J., 2004a. Effects of one bout of endurance exercise on the expression of myogenin in human quadriceps muscle. *Histochem Cell Biol* 121, 329-334.
- Kadi, F., Schjerling, P., Andersen, L.L., Charifi, N., Madsen, J.L., Christensen, L.R., Andersen, J.L., 2004b. The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *J Physiol* 558, 1005-1012.
- Kalkman, J.S., Schillings, M.L., van der Werf, S.P., Padberg, G.W., Zwarts, M.J., van Engelen, B.G., Bleijenberg, G., 2005. Experienced fatigue in facioscapulohumeral dystrophy, myotonic dystrophy, and HMSN-I. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 76, 1406-1409.
- Kalkman, J.S., Zwarts, M.J., Schillings, M.L., van Engelen, B.G., Bleijenberg, G., 2008. Different types of fatigue in patients with facioscapulohumeral dystrophy, myotonic dystrophy and HMSN-I. Experienced fatigue and physiological fatigue. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* 29 Suppl 2, S238-240.
- Kang, J.S., Krauss, R.S., 2010. Muscle stem cells in developmental and regenerative myogenesis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 13, 243-248.
- Katz, B., 1939. The relation between force and speed in muscular contraction. *J Physiol* 96, 45-64.
- Kelly, A.M., Zacks, S.I., 1969. The histogenesis of rat intercostal muscle. *J Cell Biol* 42, 135-153.
- Kierkegaard, M., Harms-Ringdahl, K., Edstrom, L., Widen Holmqvist, L., Tollback, A., 2011. Feasibility and effects of a physical exercise programme in adults with myotonic dystrophy type 1: a randomized controlled pilot study. *Journal of rehabilitation medicine : official journal of the UEMS European Board of Physical and Rehabilitation Medicine* 43, 695-702.
- King, S., Wessel, J., Bhambhani, Y., Maikala, R., Sholter, D., Maksymowych, W., 1999. Validity and reliability of the 6 minute walk in persons with fibromyalgia. *The Journal of rheumatology* 26, 2233-2237.
- Kitzmann, M., Fernandez, A., 2001. Crosstalk between cell cycle regulators and the myogenic factor MyoD in skeletal myoblasts. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 58, 571-579.
- Koh, T.J., Brooks, S.V., 2001. Lengthening contractions are not required to induce protection from contraction-induced muscle injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281, R155-161.
- Komi, P.V., Viitasalo, J.T., 1977. Changes in motor unit activity and metabolism in human skeletal muscle during and after repeated eccentric and concentric contractions. *Acta Physiol Scand* 100, 246-254.
- Korhonen, M.T., Cristea, A., Alen, M., Hakkinen, K., Sipila, S., Mero, A., Viitasalo, J.T., Larsson, L., Suominen, H., 2006. Aging, muscle fiber type, and contractile function in sprint-trained athletes. *J Appl Physiol* 101, 906-917.
- Kottlors, M., Kirschner, J., 2010. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell Tissue Res* 340, 541-548.
- Kowaljow, V., Marcowycz, A., Anseu, E., Conde, C.B., Sauvage, S., Matteotti, C., Arias, C., Corona, E.D., Nunez, N.G., Leo, O., Wattiez, R., Figlewicz, D., Laoudj-Chenivesse, D., Belayew, A., Coppee, F., Rosa, A.L., 2007. The DUX4 gene at the FSHD1A locus encodes a pro-apoptotic protein. *Neuromuscul Disord* 17, 611-623.
- Krauss, R.S., Cole, F., Gaio, U., Takaesu, G., Zhang, W., Kang, J.S., 2005. Close encounters: regulation of vertebrate skeletal myogenesis by cell-cell contact. *Journal of cell science* 118, 2355-2362.
- Krupp, L.B., LaRocca, N.G., Muir-Nash, J., Steinberg, A.D., 1989. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 46, 1121-1123.

- Kyroussis, D., Mills, G.H., Polkey, M.I., Hamnegard, C.H., Koulouris, N., Green, M., Moxham, J., 1996. Abdominal muscle fatigue after maximal ventilation in humans. *J Appl Physiol* 81, 1477-1483.
- Laforet, P., de Toma, C., Eymard, B., Becane, H.M., Jeanpierre, M., Fardeau, M., Duboc, D., 1998. Cardiac involvement in genetically confirmed facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 51, 1454-1456.
- Lee, Y.S., Laffrey, S.C., 2006. Predictors of physical activity in older adults with borderline hypertension. *Nursing research* 55, 110-120.
- Leitzmann, M.F., Park, Y., Blair, A., Ballard-Barbash, R., Mouw, T., Hollenbeck, A.R., Schatzkin, A., 2007. Physical activity recommendations and decreased risk of mortality. *Archives of internal medicine* 167, 2453-2460.
- Lemmers, R.J., Osborn, M., Haaf, T., Rogers, M., Frants, R.R., Padberg, G.W., Cooper, D.N., van der Maarel, S.M., Upadhyaya, M., 2003. D4F104S1 deletion in facioscapulohumeral muscular dystrophy: phenotype, size, and detection. *Neurology* 61, 178-183.
- Lemmers, R.J., van der Vliet, P.J., Klooster, R., Sacconi, S., Camano, P., Dauwerse, J.G., Snider, L., Straasheijm, K.R., van Ommen, G.J., Padberg, G.W., Miller, D.G., Tapscott, S.J., Tawil, R., Frants, R.R., van der Maarel, S.M., 2010. A unifying genetic model for facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Science (New York, N.Y.)* 329, 1650-1653.
- Lepers, R., Millet, G.Y., Maffiuletti, N.A., 2001. Effect of cycling cadence on contractile and neural properties of knee extensors. *Med Sci Sports Exerc* 33, 1882-1888.
- Leplege, A., Mesbah, M., Marquis, P., 1995. [Preliminary analysis of the psychometric properties of the French version of an international questionnaire measuring the quality of life: the MOS SF-36 (version 1.1)]. *Revue d'epidemiologie et de sante publique* 43, 371-379.
- Leplege, A., Rude, N., 1995. The importance of patients' own view about their quality of life. *AIDS (London, England)* 9, 1108-1110.
- Lieber, R.L., Friden, J., 2001. Clinical significance of skeletal muscle architecture. *Clinical orthopaedics and related research*, 140-151.
- Lieber, R.L., Friden, J., 2002. Morphologic and mechanical basis of delayed-onset muscle soreness. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons* 10, 67-73.
- Lieber, R.L., Fridén, J., 1993. Muscle damage is not a function of muscle force but active muscle strain. *J. Appl. Physiol.* 74, 520-526.
- Lieber, R.L., Fridén, J., 1996. Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. *Journal of Applied Physiology* 80, 278-284.
- Lindeman, E., Leffers, P., Spaans, F., Drukker, J., Reulen, J., Kerckhoffs, M., Koke, A., 1995. Strength training in patients with myotonic dystrophy and hereditary motor and sensory neuropathy: a randomized clinical trial. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 76, 612-620.
- Lindstrom, M., Thornell, L.E., 2009. New multiple labelling method for improved satellite cell identification in human muscle: application to a cohort of power-lifters and sedentary men. *Histochem Cell Biol* 132, 141-157.
- Linossier, M.T., Denis, C., Dormois, D., Geysant, A., Lacour, J.R., 1993. Ergometric and metabolic adaptation to a 5-s sprint training programme. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 67, 408-414.
- Liu, Q., Jones, T.I., Tang, V.W., Brieher, W.M., Jones, P.L., 2010. Facioscapulohumeral muscular dystrophy region gene-1 (FRG-1) is an actin-bundling protein associated with muscle-attachment sites. *Journal of cell science* 123, 1116-1123.
- Lunt, P.W., Harper, P.S., 1991. Genetic counselling in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Journal of medical genetics* 28, 655-664.
- Lunt, P.W., Jardine, P.E., Koch, M., Maynard, J., Osborn, M., Williams, M., Harper, P.S., Upadhyaya, M., 1995. Phenotypic-genotypic correlation will assist genetic counseling in 4q35-facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle & nerve. Supplement*, S103-109.

- Lupski, J.R., 2012. Digenic inheritance and Mendelian disease. *Nature genetics* 44, 1291-1292.
- Lyle, R., Wright, T.J., Clark, L.N., Hewitt, J.E., 1995. The FSHD-associated repeat, D4Z4, is a member of a dispersed family of homeobox-containing repeats, subsets of which are clustered on the short arms of the acrocentric chromosomes. *Genomics* 28, 389-397.
- MacIntyre, D.L., Reid, W.D., McKenzie, D.C., 1995. Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implication. *Sports Med.* 20, 24-40.
- Mackey, A.L., Andersen, L.L., Frandsen, U., Sjogaard, G., 2011a. Strength training increases the size of the satellite cell pool in type I and II fibres of chronically painful trapezius muscle in females. *J Physiol* 589, 5503-5515.
- Mackey, A.L., Esmarck, B., Kadi, F., Koskinen, S.O., Kongsgaard, M., Sylvestersen, A., Hansen, J.J., Larsen, G., Kjaer, M., 2007a. Enhanced satellite cell proliferation with resistance training in elderly men and women. *Scand J Med Sci Sports* 17, 34-42.
- Mackey, A.L., Holm, L., Reitelseder, S., Pedersen, T.G., Doessing, S., Kadi, F., Kjaer, M., 2011b. Myogenic response of human skeletal muscle to 12 weeks of resistance training at light loading intensity. *Scand J Med Sci Sports* 21, 773-782.
- Mackey, A.L., Kjaer, M., Charifi, N., Henriksson, J., Bojsen-Moller, J., Holm, L., Kadi, F., 2009. Assessment of satellite cell number and activity status in human skeletal muscle biopsies. *Muscle Nerve* 40, 455-465.
- Mackey, A.L., Kjaer, M., Dandanell, S., Mikkelsen, K.H., Holm, L., Dossing, S., Kadi, F., Koskinen, S.O., Jensen, C.H., Schroder, H.D., Langberg, H., 2007b. The influence of anti-inflammatory medication on exercise-induced myogenic precursor cell responses in humans. *J Appl Physiol* 103, 425-431.
- Maier, A., Gorza, L., Schiaffino, S., Pette, D., 1988. A combined histochemical and immunohistochemical study on the dynamics of fast-to-slow fiber transformation in chronically stimulated rabbit muscle. *Cell Tissue Res* 254, 59-68.
- Maier, F., Bornemann, A., 1999. Comparison of the muscle fiber diameter and satellite cell frequency in human muscle biopsies. *Muscle Nerve* 22, 578-583.
- Malisoux, L., Francaux, M., Theisen, D., 2007. What do single-fiber studies tell us about exercise training? *Med Sci Sports Exerc* 39, 1051-1060.
- Martinez, J.E., Barauna Filho, I.S., Kubokawa, K., Pedreira, I.S., Machado, L.A., Cevalco, G., 2001. Evaluation of the quality of life in Brazilian women with fibromyalgia, through the medical outcome survey 36 item short-form study. *Disability and rehabilitation* 23, 64-68.
- Matsuo, T., Saotome, K., Seino, S., Shimojo, N., Matsushita, A., Iemitsu, M., Ohshima, H., Tanaka, K., Mukai, C., 2013. Effects of a Low-Volume Aerobic-Type Interval Exercise on VO₂max and Cardiac Mass. *Med Sci Sports Exerc*.
- Mauro, A., 1961. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 9, 493-495.
- McCrorry, M.A., Kim, H.R., Wright, N.C., Lovelady, C.A., Aitkens, S., Kilmer, D.D., 1998. Energy expenditure, physical activity, and body composition of ambulatory adults with hereditary neuromuscular disease. *The American journal of clinical nutrition* 67, 1162-1169.
- McHugh, M.P., Connolly, D.A., Eston, R.G., Gleim, G.W., 1999. Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 27, 157-170.
- Menotti, F., Bazzucchi, I., Felici, F., Damiani, A., Gori, M.C., Macaluso, A., 2012. Neuromuscular function after muscle fatigue in Charcot-Marie-Tooth type 1A patients. *Muscle Nerve* 46, 434-439.
- Merton, P.A., 1954. Voluntary strength and fatigue. *J Physiol* 123, 553-564.
- Millet, G.Y., Bachasson, D., Temesi, J., Wuyam, B., Feasson, L., Verges, S., Levy, P., 2012. Potential interests and limits of magnetic and electrical stimulation techniques to assess neuromuscular fatigue. *Neuromuscul Disord* 22 Suppl 3, S181-186.

Millet, G.Y., Lepers, R., 2004. Alterations of neuromuscular function after prolonged running, cycling and skiing exercises. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 34, 105-116.

Millet, G.Y., Lepers, R., Maffiuletti, N.A., Babault, N., Martin, V., Lattier, G., 2002. Alterations of neuromuscular function after an ultramarathon. *J Appl Physiol* 92, 486-492.

Millet, G.Y., Martin, V., Lattier, G., Ballay, Y., 2003. Mechanisms contributing to knee extensor strength loss after prolonged running exercise. *J Appl Physiol* 94, 193-198.

Millet, G.Y., Tomazin, K., Verges, S., Vincent, C., Bonnefoy, R., Boisson, R.C., Gergele, L., Feasson, L., Martin, V., 2011. Neuromuscular consequences of an extreme mountain ultramarathon. *PloS one* 6, e17059.

Milner-Brown, H.S., Miller, R.G., 1988. Muscle strengthening through high-resistance weight training in patients with neuromuscular disorders. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 69, 14-19.

Milner-Brown, H.S., Stein, R.B., Lee, R.G., 1975. Synchronization of human motor units: possible roles of exercise and supraspinal reflexes. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 38, 245-254.

Moalla, W., Maingourd, Y., Gauthier, R., Cahalin, L.P., Tabka, Z., Ahmaidi, S., 2006. Effect of exercise training on respiratory muscle oxygenation in children with congenital heart disease. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology* 13, 604-611.

Molkentin, J.D., Olson, E.N., 1996. Combinatorial control of muscle development by basic helix-loop-helix and MADS-box transcription factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 9366-9373.

Momken, I., Lechene, P., Koulmann, N., Fortin, D., Mateo, P., Doan, B.T., Hoerter, J., Bigard, X., Veksler, V., Ventura-Clapier, R., 2005. Impaired voluntary running capacity of creatine kinase-deficient mice. *J Physiol* 565, 951-964.

Morgan, D.W., Bransford, D.R., Costill, D.L., Daniels, J.T., Howley, E.T., Krahenbuhl, G.S., 1995. Variation in the aerobic demand of running among trained and untrained subjects. *Med Sci Sports Exerc* 27, 404-409.

Moritani, T., deVries, H.A., 1979. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. *American journal of physical medicine* 58, 115-130.

Moritz, C.T., Barry, B.K., Pascoe, M.A., Enoka, R.M., 2005. Discharge rate variability influences the variation in force fluctuations across the working range of a hand muscle. *Journal of neurophysiology* 93, 2449-2459.

Moss, F.P., Leblond, C.P., 1971. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *Anat Rec* 170, 421-435.

Murphy, J.L., Blakely, E.L., Schaefer, A.M., He, L., Wyrick, P., Haller, R.G., Taylor, R.W., Turnbull, D.M., Taivassalo, T., 2008. Resistance training in patients with single, large-scale deletions of mitochondrial DNA. *Brain : a journal of neurology* 131, 2832-2840.

Nedergaard, A., Karsdal, M.A., Sun, S., Henriksen, K., 2013. Serological muscle loss biomarkers: an overview of current concepts and future possibilities. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 4, 1-17.

Neuberger, G., 2003. Measures of fatigue: The Fatigue Questionnaire, Fatigue Severity Scale, Multidimensional Assessment of Fatigue Scale, and Short Form-36 Vitality (Energy/Fatigue) Subscale of the Short Form Health Survey. *Arthritis & Rheumatism Vol. 49, No. 5S*, pp S175-S183.

Newham, D.J., McPhail, G., Mills, K.R., Edwards, R.H.T., 1983. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *Journal of Neurological Sciences* 61, 109-122.

Nguyen, K., Walrafen, P., Bernard, R., Attarian, S., Chaix, C., Vovan, C., Renard, E., Dufrane, N., Pouget, J., Vannier, A., Bensimon, A., Levy, N., 2011. Molecular combing reveals allelic combinations in facioscapulohumeral dystrophy. *Annals of neurology* 70, 627-633.

Nikolic, Z., Ilic, N., 1992. Maximal oxygen uptake in trained and untrained 15-year-old boys. *British journal of sports medicine* 26, 36-38.

Nikovits, W., Jr., Cann, G.M., Huang, R., Christ, B., Stockdale, F.E., 2001. Patterning of fast and slow fibers within embryonic muscles is established independently of signals from the surrounding mesenchyme. *Development (Cambridge, England)* 128, 2537-2544.

Noakes, T.D., 2012. Fatigue is a Brain-Derived Emotion that Regulates the Exercise Behavior to Ensure the Protection of Whole Body Homeostasis. *Frontiers in physiology* 3, 82.

Nosaka, K., Clarkson, P.M., 1992. Relationship between post-exercise plasma CK elevation and muscle mass involved in the exercise. *International journal of sports medicine* 13, 471-475.

Nosaka, K., Clarkson, P.M., 1995. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 27, 1263-1269.

Nosaka, K., Clarkson, P.M., 1996. Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors. *International journal of sports medicine* 17, 120-127.

Nosaka, K., Clarkson, P.M., 1997. Influence of previous concentric exercise on eccentric exercise-induced muscle damage. *Journal of sports sciences* 15, 477-483.

Nosaka, K., Kuramata, T., 1991. Muscle soreness and serum enzyme activity following consecutive drop jumps. *Journal of sports sciences* 9, 213-220.

Nosaka, K., Sakamoto, K., Newton, M., Sacco, P., 2001. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last ? *Medicine and Science in Sports and Exercise* 33, 1490-1495.

Nybo, L., Girard, O., Mohr, M., Knez, W., Voss, S., Racinais, S., 2013. Markers of muscle damage and performance recovery after exercise in the heat. *Med Sci Sports Exerc* 45, 860-868.

Olsen, D.B., Orngreen, M.C., Vissing, J., 2005. Aerobic training improves exercise performance in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 64, 1064-1066.

Olsen, O., Sjøhaug, M., van Beekvelt, M., Mork, P.J., 2012. The effect of warm-up and cool-down exercise on delayed onset muscle soreness in the quadriceps muscle: a randomized controlled trial. *Journal of human kinetics* 35, 59-68.

Ontell, M., Bourke, D., Hughes, D., 1988. Cytoarchitecture of the fetal murine soleus muscle. *The American journal of anatomy* 181, 267-278.

Orngreen, M.C., Olsen, D.B., Vissing, J., 2005. Aerobic training in patients with myotonic dystrophy type 1. *Annals of neurology* 57, 754-757.

Oustanina, S., Hause, G., Braun, T., 2004. Pax7 directs postnatal renewal and propagation of myogenic satellite cells but not their specification. *The EMBO journal* 23, 3430-3439.

Padberg, G.W., Brouwer, O.F., de Keizer, R.J., Dijkman, G., Wijmenga, C., Grote, J.J., Frants, R.R., 1995. On the significance of retinal vascular disease and hearing loss in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle & nerve. Supplement* 2, S73-80.

Padberg, G.W., Lunt, P.W., Koch, M., Fardeau, M., 1991. Diagnostic criteria for facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 1, 231-234.

Pandya, S., King, W.M., Tawil, R., 2008. Facioscapulohumeral dystrophy. *Physical therapy* 88, 105-113.

Parolin, M.L., Chesley, A., Matsos, M.P., Spriet, L.L., Jones, N.L., Heigenhauser, G.J., 1999. Regulation of skeletal muscle glycogen phosphorylase and PDH during maximal intermittent exercise. *The American journal of physiology* 277, E890-900.

Pasquet, B., Carpentier, A., Duchateau, J., 2005. Change in muscle fascicle length influences the recruitment and discharge rate of motor units during isometric contractions. *Journal of neurophysiology* 94, 3126-3133.

Patterson, M.F., Stephenson, G.M., Stephenson, D.G., 2006. Denervation produces different single fiber phenotypes in fast- and slow-twitch hindlimb muscles of the rat. *Am J Physiol Cell Physiol* 291, C518-528.

Paulsen, G., Cramer, R., Benestad, H.B., Fjeld, J.G., Morkrid, L., Hallen, J., Raastad, T., 2010. Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 42, 75-85.

Perneger, T.V., Leplege, A., Etter, J.F., Rougemont, A., 1995. Validation of a French-language version of the MOS 36-Item Short Form Health Survey (SF-36) in young healthy adults. *Journal of clinical epidemiology* 48, 1051-1060.

Petrella, J.K., Kim, J.S., Cross, J.M., Kosek, D.J., Bamman, M.M., 2006. Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291, E937-946.

Petrov, A., Allinne, J., Pirozhkova, I., Laoudj, D., Lipinski, M., Vassetzky, Y.S., 2008. A nuclear matrix attachment site in the 4q35 locus has an enhancer-blocking activity in vivo: implications for the facio-scapulo-humeral dystrophy. *Genome research* 18, 39-45.

Pette, D., Staron, R.S., 1997. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *International review of cytology* 170, 143-223.

Phillips, S.M., 2014. A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 44 Suppl 1, S71-77.

Piazzesi, G., Lucii, L., Lombardi, V., 2002. The size and the speed of the working stroke of muscle myosin and its dependence on the force. *J Physiol* 545, 145-151.

Place, N., Maffiuletti, N.A., Martin, A., Lepers, R., 2007. Assessment of the reliability of central and peripheral fatigue after sustained maximal voluntary contraction of the quadriceps muscle. *Muscle Nerve* 35, 486-495.

Polkey, M.I., Kyroussis, D., Hamnegard, C.H., Mills, G.H., Green, M., Moxham, J., 1996. Quadriceps strength and fatigue assessed by magnetic stimulation of the femoral nerve in man. *Muscle Nerve* 19, 549-555.

Polkey, M.I., Kyroussis, D., Keilty, S.E., Hamnegard, C.H., Mills, G.H., Green, M., Moxham, J., 1995. Exhaustive treadmill exercise does not reduce twitch transdiaphragmatic pressure in patients with COPD. *American journal of respiratory and critical care medicine* 152, 959-964.

Ponsot, E., Lexell, J., Kadi, F., 2008. Skeletal muscle telomere length is not impaired in healthy physically active old women and men. *Muscle Nerve* 37, 467-472.

Poulsen, J.B., 2012. Impaired physical function, loss of muscle mass and assessment of biomechanical properties in critical ill patients. *Danish medical journal* 59, B4544.

Proske, U., Morgan, D., 2001a. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *Journal of Physiology of London* 537, 333-345.

Proske, U., Morgan, D.L., 2001b. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol* 537, 333-345.

Purslow, P.P., 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat science* 70, 435-447.

Rassier, D.E., Macintosh, B.R., 2000. Coexistence of potentiation and fatigue in skeletal muscle. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica ... [et al.]* 33, 499-508.

Reid, R.D., Dafoe, W.A., Morrin, L., Mayhew, A., Papadakis, S., Beaton, L., Oldridge, N.B., Coyle, D., Wells, G.A., 2005. Impact of program duration and contact frequency on efficacy and cost of cardiac rehabilitation: results of a randomized trial. *American heart journal* 149, 862-868.

Relaix, F., Marcelle, C., 2009. Muscle stem cells. *Current opinion in cell biology* 21, 748-753.

Relaix, F., Montarras, D., Zaffran, S., Gayraud-Morel, B., Rocancourt, D., Tajbakhsh, S., Mansouri, A., Cumano, A., Buckingham, M., 2006. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J Cell Biol* 172, 91-102.

Relaix, F., Rocancourt, D., Mansouri, A., Buckingham, M., 2005. A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. *Nature* 435, 948-953.

Renaud, J.M., Comtois, A., 1994. The effect of K⁺ on the recovery of the twitch and tetanic force following fatigue in the sartorius muscle of the frog, *Rana pipiens*. *J Muscle Res Cell Motil* 15, 420-431.

Richards, M., Coppee, F., Thomas, N., Belayew, A., Upadhyaya, M., 2012. Facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD): an enigma unravelled? *Human genetics* 131, 325-340.

Rimaud, D., Messonnier, L., Castells, J., Devillard, X., Calmels, P., 2010. Effects of compression stockings during exercise and recovery on blood lactate kinetics. *Eur J Appl Physiol* 110, 425-433.

Rios, E., Ma, J.J., Gonzalez, A., 1991. The mechanical hypothesis of excitation-contraction (EC) coupling in skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil* 12, 127-135.

Ritchie, J.M., Wilkie, D.R., 1958. The dynamics of muscular contraction. *J Physiol* 143, 104-113.

Rivera-Brown, A.M., Frontera, W.R., 2012. Principles of exercise physiology: responses to acute exercise and long-term adaptations to training. *PM R* 4, 797-804.

Roberge, R., 1992. Canadian family physician *Medecin de famille canadien* 38, 1476-1482.

Rønnestad, B.R., Hansen, J., Ellefsen, S., 2014. Block periodization of high-intensity aerobic intervals provides superior training effects in trained cyclists. *Scand J Med Sci Sports* 24, 34-42.

Ross, A., Leveritt, M., 2001. Long-term metabolic and skeletal muscle adaptations to short-sprint training: implications for sprint training and tapering. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 31, 1063-1082.

Ross, J.J., Duxson, M.J., Harris, A.J., 1987. Formation of primary and secondary myotubes in rat lumbrical muscles. *Development (Cambridge, England)* 100, 383-394.

Rudnicki, M.A., Schnegelsberg, P.N., Stead, R.H., Braun, T., Arnold, H.H., Jaenisch, R., 1993. MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *Cell* 75, 1351-1359.

Sacconi, S., Desnuelle, C., 2013. [Facioscapulohumeral muscular dystrophy type 2]. *Rev Neurol (Paris)* 169, 564-572.

Sacconi, S., Salviati, L., Desnuelle, C., 2014. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Biochimica et biophysica acta*.

Saito, Y., Miyashita, S., Yokoyama, A., Komaki, H., Seki, A., Maegaki, Y., Ohno, K., 2007. Facioscapulohumeral muscular dystrophy with severe mental retardation and epilepsy. *Brain & development* 29, 231-233.

Sakamoto, K., Nosaka, K., Shimegi, S., Ohmori, H., Katsuta, S., 1996. Creatine kinase release from regenerated muscles after eccentric contractions in rats. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 73, 516-520.

Saks, V.A., Ventura-Clapier, R., Aliev, M.K., 1996. Metabolic control and metabolic capacity: two aspects of creatine kinase functioning in the cells. *Biochimica et biophysica acta* 1274, 81-88.

Sakthivelavan, D.S., Sumathilatha, S., 2010. Maximal power output during incremental exercise by resistance and endurance trained athletes. *Indian journal of physiology and pharmacology* 54, 381-385.

Sandow, A., 1965. Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmacological reviews* 17, 265-320.

Sandow, A., Taylor, S.R., Preiser, H., 1965. Role of the action potential in excitation-contraction coupling. *Federation proceedings* 24, 1116-1123.

Schafer, K., Braun, T., 1999. Early specification of limb muscle precursor cells by the homeobox gene *Lbx1h*. *Nature genetics* 23, 213-216.

Schiaffino, S., Ausoni, S., Gorza, L., Saggin, L., Gundersen, K., Lomo, T., 1988. Myosin heavy chain isoforms and velocity of shortening of type 2 skeletal muscle fibres. *Acta Physiol Scand* 134, 575-576.

Schienda, J., Engleka, K.A., Jun, S., Hansen, M.S., Epstein, J.A., Tabin, C.J., Kunkel, L.M., Kardon, G., 2006. Somitic origin of limb muscle satellite and side population cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 945-950.

Schillings, M.L., Kalkman, J.S., Janssen, H.M., van Engelen, B.G., Bleijenberg, G., Zwarts, M.J., 2007. Experienced and physiological fatigue in neuromuscular disorders. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 118, 292-300.

Schmidt, C., Bladt, F., Goedecke, S., Brinkmann, V., Zschiesche, W., Sharpe, M., Gherardi, E., Birchmeier, C., 1995. Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 373, 699-702.

Schoenfeld, B.J., 2010. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association* 24, 2857-2872.

Schultz, E., McCormick, K.M., 1994. Skeletal muscle satellite cells. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* 123, 213-257.

Schwartz, C.E., Coulthard-Morris, L., Zeng, Q., 1996. Psychosocial correlates of fatigue in multiple sclerosis. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 77, 165-170.

Scionti, I., Greco, F., Ricci, G., Govi, M., Arashiro, P., Vercelli, L., Berardinelli, A., Angelini, C., Antonini, G., Cao, M., Di Muzio, A., Moggio, M., Morandi, L., Ricci, E., Rodolico, C., Ruggiero, L., Santoro, L., Siciliano, G., Tomelleri, G., Trevisan, C.P., Galluzzi, G., Wright, W., Zatz, M., Tupler, R., 2012. Large-scale population analysis challenges the current criteria for the molecular diagnosis of fascioscapulohumeral muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 90, 628-635.

Sciote, J.J., Morris, T.J., 2000. Skeletal muscle function and fibre types: the relationship between occlusal function and the phenotype of jaw-closing muscles in human. *Journal of orthodontics* 27, 15-30.

Segal, R., Evans, W., Johnson, D., Smith, J., Colletta, S., Gayton, J., Woodard, S., Wells, G., Reid, R., 2001. Structured exercise improves physical functioning in women with stages I and II breast cancer: results of a randomized controlled trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 19, 657-665.

Semmler, J.G., Sale, M.V., Meyer, F.G., Nordstrom, M.A., 2004. Motor-unit coherence and its relation with synchrony are influenced by training. *Journal of neurophysiology* 92, 3320-3331.

Serrano-Ostariz, E., Terreros-Blanco, J.L., Legaz-Arrese, A., George, K., Shave, R., Bocos-Terraz, P., Izquierdo-Alvarez, S., Bancalero, J.L., Echavarri, J.M., Quilez, J., Aragonés, M.T., Carranza-Garcia, L.E., 2011. The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scand J Med Sci Sports* 21, 244-249.

Sesboue, B., Guincestre, J.Y., 2006. Muscular fatigue. *Annales de readaptation et de médecine physique : revue scientifique de la Société française de rééducation fonctionnelle de readaptation et de médecine physique* 49, 257-264, 348-254.

Shefer, G., Rauner, G., Yablonka-Reuveni, Z., Benayahu, D., 2010. Reduced satellite cell numbers and myogenic capacity in aging can be alleviated by endurance exercise. *PLoS one* 5, e13307.

Shemmell, J., Tresilian, J.R., Riek, S., Barry, B.K., Carson, R.G., 2005. Neuromuscular adaptation during skill acquisition on a two degree-of-freedom target-acquisition task: dynamic movement. *Journal of neurophysiology* 94, 3058-3068.

Sherwood, R.A., Lambert, A., Newham, D.J., Wassif, W.S., Peters, T.J., 1996. The effect of eccentric exercise on serum creatine kinase activity in different ethnic groups. *Annals of clinical biochemistry* 33 (Pt 4), 324-329.

Sillen, M.J., Franssen, F.M., Gosker, H.R., Wouters, E.F., Spruit, M.A., 2013. Metabolic and structural changes in lower-limb skeletal muscle following neuromuscular electrical stimulation: a systematic review. *PloS one* 8, e69391.

Skidmore, B.L., Jones, M.T., Blegen, M., Matthews, T.D., 2012. Acute effects of three different circuit weight training protocols on blood lactate, heart rate, and rating of perceived exertion in recreationally active women. *Journal of sports science & medicine* 11, 660-668.

Sloth, M., Sloth, D., Overgaard, K., Dalgas, U., 2013. Effects of sprint interval training on VO and aerobic exercise performance: A systematic review and meta-analysis. *Scand J Med Sci Sports*.

Snider, L., Asawachaicharn, A., Tyler, A.E., Geng, L.N., Petek, L.M., Maves, L., Miller, D.G., Lemmers, R.J., Winokur, S.T., Tawil, R., van der Maarel, S.M., Filippova, G.N., Tapscott, S.J., 2009. RNA transcripts, miRNA-sized fragments and proteins produced from D4Z4 units: new candidates for the pathophysiology of facioscapulohumeral dystrophy. *Hum Mol Genet* 18, 2414-2430.

Snider, L., Geng, L.N., Lemmers, R.J., Kyba, M., Ware, C.B., Nelson, A.M., Tawil, R., Filippova, G.N., van der Maarel, S.M., Tapscott, S.J., Miller, D.G., 2010. Facioscapulohumeral dystrophy: incomplete suppression of a retrotransposed gene. *PLoS genetics* 6, e1001181.

Snijders, T., Verdijk, L.B., van Loon, L.J., 2009. The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. *Ageing Res Rev* 8, 328-338.

Spalding, K.L., Bhardwaj, R.D., Buchholz, B.A., Druid, H., Frisen, J., 2005. Retrospective birth dating of cells in humans. *Cell* 122, 133-143.

St-Amand, J., Yoshioka, M., Nishida, Y., Tobina, T., Shono, N., Tanaka, H., 2012. Effects of mild-exercise training cessation in human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 112, 853-869.

Stevens, L., Sultan, K.R., Peuker, H., Gohlsch, B., Mounier, Y., Pette, D., 1999. Time-dependent changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms in unloaded soleus muscle of rat. *The American journal of physiology* 277, C1044-1049.

Stevenson, W.G., Perloff, J.K., Weiss, J.N., Anderson, T.L., 1990. Facioscapulohumeral muscular dystrophy: evidence for selective, genetic electrophysiologic cardiac involvement. *Journal of the American College of Cardiology* 15, 292-299.

Stockdale, F.E., Miller, J.B., 1987. The cellular basis of myosin heavy chain isoform expression during development of avian skeletal muscles. *Developmental biology* 123, 1-9.

Stolwijk-Swuste, J.M., Beelen, A., Lankhorst, G.J., Nollet, F., 2008. SF36 physical functioning scale and 2-minute walk test advocated as core qualifiers to evaluate physical functioning in patients with late-onset sequelae of poliomyelitis. *Journal of rehabilitation medicine : official journal of the UEMS European Board of Physical and Rehabilitation Medicine* 40, 387-394.

Stubgen, J.P., Schultz, C., 2009. Lung and respiratory muscle function in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 39, 729-734.

Stupka, N., Tarnopolsky, M.A., Yardley, N.J., Phillips, S.M., 2001. Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol* 91, 1669-1678.

Sveen, M.L., Jeppesen, T.D., Hauerslev, S., Krag, T.O., Vissing, J., 2007. Endurance training: an effective and safe treatment for patients with LGMD2I. *Neurology* 68, 59-61.

Szecsí, J., Gotz, S., Pollmann, W., Straube, A., 2010. Force-pain relationship in functional magnetic and electrical stimulation of subjects with paresis and preserved sensation. *Clinical*

neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology 121, 1589-1597.

Taivassalo, T., De Stefano, N., Argov, Z., Matthews, P.M., Chen, J., Genge, A., Karpati, G., Arnold, D.L., 1998. Effects of aerobic training in patients with mitochondrial myopathies. *Neurology* 50, 1055-1060.

Taivassalo, T., Gardner, J.L., Taylor, R.W., Schaefer, A.M., Newman, J., Barron, M.J., Haller, R.G., Turnbull, D.M., 2006. Endurance training and detraining in mitochondrial myopathies due to single large-scale mtDNA deletions. *Brain : a journal of neurology* 129, 3391-3401.

Taivassalo, T., Shoubbridge, E.A., Chen, J., Kennaway, N.G., DiMauro, S., Arnold, D.L., Haller, R.G., 2001. Aerobic conditioning in patients with mitochondrial myopathies: physiological, biochemical, and genetic effects. *Annals of neurology* 50, 133-141.

Tajbakhsh, S., 2009. Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis. *Journal of internal medicine* 266, 372-389.

Tajbakhsh, S., Buckingham, M., 2000. The birth of muscle progenitor cells in the mouse: spatiotemporal considerations. *Current topics in developmental biology* 48, 225-268.

Tanaka, M., Shigihara, Y., Ishii, A., Funakura, M., Kanai, E., Watanabe, Y., 2012. Effect of mental fatigue on the central nervous system: an electroencephalography study. *Behavioral and brain functions : BBF* 8, 48.

Tassin, A., Leroy, B., Laoudj-Chenivresse, D., Wauters, A., Vanderplanck, C., Le Bihan, M.C., Coppee, F., Wattiez, R., Belayew, A., 2012. FSHD myotubes with different phenotypes exhibit distinct proteomes. *PloS one* 7, e51865.

Tate, D.G., Forchheimer, M., 2002. Quality of life, life satisfaction, and spirituality: comparing outcomes between rehabilitation and cancer patients. *Am J Phys Med Rehabil* 81, 400-410.

Tate, D.G., Kalpakjian, C.Z., Forchheimer, M.B., 2002. Quality of life issues in individuals with spinal cord injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 83, S18-25.

Tawil, R., 2008. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 5, 601-606.

Tawil, R., Forrester, J., Griggs, R.C., Mendell, J., Kissel, J., McDermott, M., King, W., Weiffenbach, B., Figlewicz, D., 1996. Evidence for anticipation and association of deletion size with severity in facioscapulohumeral muscular dystrophy. The FSH-DY Group. *Annals of neurology* 39, 744-748.

Tawil, R., van der Maarel, S., Padberg, G.W., van Engelen, B.G., 2010. 171st ENMC international workshop: Standards of care and management of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 20, 471-475.

Tengland, P.A., 2006. The goals of health work: Quality of life, health and welfare. *Medicine, health care, and philosophy* 9, 155-167.

Tesch, P.A., Thorsson, A., Colliander, E.B., 1990. Effects of eccentric and concentric resistance training on skeletal muscle substrates, enzyme activities and capillary supply. *Acta Physiol Scand* 140, 575-580.

Thornell, L.E., Lindstrom, M., Renault, V., Mouly, V., Butler-Browne, G.S., 2003. Satellite cells and training in the elderly. *Scand J Med Sci Sports* 13, 48-55.

Thorstensson, A., Hulten, B., von Döbeln, W., Karlsson, J., 1976. Effect of strength training on enzyme activities and fibre characteristics in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 96, 392-398.

Tjonna, A.E., Leinan, I.M., Bartnes, A.T., Jenssen, B.M., Gibala, M.J., Winnett, R.A., Wisloff, U., 2013. Low- and high-volume of intensive endurance training significantly improves maximal oxygen uptake after 10-weeks of training in healthy men. *PloS one* 8, e65382.

Todd, G., Taylor, J.L., Gandevia, S.C., 2003. Measurement of voluntary activation of fresh and fatigued human muscles using transcranial magnetic stimulation. *J Physiol* 551, 661-671.

Tomazin, K., Verges, S., Decorte, N., Oulerich, A., Maffiuletti, N.A., Millet, G.Y., 2011. Fat tissue alters quadriceps response to femoral nerve magnetic stimulation. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 122, 842-847.

Tonini, M.M., Passos-Bueno, M.R., Cerqueira, A., Matioli, S.R., Pavanello, R., Zatz, M., 2004. Asymptomatic carriers and gender differences in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Neuromuscul Disord* 14, 33-38.

Trappe, S., Harber, M., Creer, A., Gallagher, P., Slivka, D., Minchev, K., Whitsett, D., 2006. Single muscle fiber adaptations with marathon training. *J Appl Physiol* 101, 721-727.

Trevisan, C.P., Pastorello, E., Armani, M., Angelini, C., Nante, G., Tomelleri, G., Tonin, P., Mongini, T., Palmucci, L., Galluzzi, G., Tupler, R.G., Barchitta, A., 2006. Facioscapulohumeral muscular dystrophy and occurrence of heart arrhythmia. *European neurology* 56, 1-5.

Tschakert, G., Hofmann, P., 2013. High-Intensity Intermittent Exercise - Methodological and Physiological Aspects. *International journal of sports physiology and performance*.

Turki, A., Hayot, M., Carnac, G., Pillard, F., Passerieux, E., Bommart, S., Raynaud de Mauverger, E., Hugon, G., Pincemail, J., Pietri, S., Lambert, K., Belayew, A., Vassetzky, Y., Juntas Morales, R., Mercier, J., Laoudj-Chenivesse, D., 2012. Functional muscle impairment in facioscapulohumeral muscular dystrophy is correlated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Free radical biology & medicine* 53, 1068-1079.

Upadhyaya, M., Cooper, D.N., 2002. Molecular diagnosis of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Expert review of molecular diagnostics* 2, 160-171.

van der Kooi, E.L., Kalkman, J.S., Lindeman, E., Hendriks, J.C., van Engelen, B.G., Bleijenberg, G., Padberg, G.W., 2007. Effects of training and albuterol on pain and fatigue in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *J Neurol* 254, 931-940.

van der Kooi, E.L., Lindeman, E., Riphagen, I., 2005. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, CD003907.

van der Kooi, E.L., Vogels, O.J., van Asseldonk, R.J., Lindeman, E., Hendriks, J.C., Wohlgemuth, M., van der Maarel, S.M., Padberg, G.W., 2004. Strength training and albuterol in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 63, 702-708.

van der Maarel, S.M., Frants, R.R., 2005. The D4Z4 repeat-mediated pathogenesis of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 76, 375-386.

van der Maarel, S.M., Frants, R.R., Padberg, G.W., 2007. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Biochimica et biophysica acta* 1772, 186-194.

van der Werf, S.P., Evers, A., Jongen, P.J., Bleijenberg, G., 2003. The role of helplessness as mediator between neurological disability, emotional instability, experienced fatigue and depression in patients with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 9, 89-94.

van Deutekom, J.C., Bakker, E., Lemmers, R.J., van der Wielen, M.J., Bik, E., Hofker, M.H., Padberg, G.W., Frants, R.R., 1996. Evidence for subtelomeric exchange of 3.3 kb tandemly repeated units between chromosomes 4q35 and 10q26: implications for genetic counselling and etiology of FSHD1. *Hum Mol Genet* 5, 1997-2003.

van Deutekom, J.C., Wijmenga, C., van Tienhoven, E.A., Gruter, A.M., Hewitt, J.E., Padberg, G.W., van Ommen, G.J., Hofker, M.H., Frants, R.R., 1993. FSHD associated DNA rearrangements are due to deletions of integral copies of a 3.2 kb tandemly repeated unit. *Hum Mol Genet* 2, 2037-2042.

van Geel, M., Dickson, M.C., Beck, A.F., Bolland, D.J., Frants, R.R., van der Maarel, S.M., de Jong, P.J., Hewitt, J.E., 2002. Genomic analysis of human chromosome 10q and 4q telomeres suggests a common origin. *Genomics* 79, 210-217.

Van Vaerenbergh, J., Vranken, R., Baro, F., 2003. The influence of rotational exercises on freezing in Parkinson's disease. *Functional neurology* 18, 11-16.

Verdijk, L.B., Gleeson, B.G., Jonkers, R.A., Meijer, K., Savelberg, H.H., Dendale, P., van Loon, L.J., 2009. Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64, 332-339.

Verdijk, L.B., Koopman, R., Schaart, G., Meijer, K., Savelberg, H.H., van Loon, L.J., 2007. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292, E151-157.

Verdijk, L.B., Snijders, T., Beelen, M., Savelberg, H.H., Meijer, K., Kuipers, H., Van Loon, L.J., 2010. Characteristics of muscle fiber type are predictive of skeletal muscle mass and strength in elderly men. *J Am Geriatr Soc* 58, 2069-2075.

Verdijk, L.B., Snijders, T., Drost, M., Delhaas, T., Kadi, F., van Loon, L.J., 2014. Satellite cells in human skeletal muscle; from birth to old age. *Age (Dordrecht, Netherlands)* 36, 545-547.

Verges, S., Maffiuletti, N.A., Kerherve, H., Decorte, N., Wuyam, B., Millet, G.Y., 2009a. Comparison of electrical and magnetic stimulations to assess quadriceps muscle function. *J Appl Physiol* 106, 701-710.

Verges, S., Renggli, A.S., Notter, D.A., Spengler, C.M., 2009b. Effects of different respiratory muscle training regimes on fatigue-related variables during volitional hyperpnoea. *Respiratory physiology & neurobiology* 169, 282-290.

Verney, J., Kadi, F., Charifi, N., Feasson, L., Saafi, M.A., Castells, J., Piehl-Aulin, K., Denis, C., 2008a. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle Nerve* 38, 1147-1154.

Verney, J., Kadi, F., Charifi, N., Feasson, L., Saafi, M.A., Castells, J., Piehl-Aulin, K., Denis, C., 2008b. Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle Nerve* 38, 1147-1154.

Verney, J., Kadi, F., Saafi, M.A., Piehl-Aulin, K., Denis, C., 2006. Combined lower body endurance and upper body resistance training improves performance and health parameters in healthy active elderly. *Eur J Appl Physiol* 97, 288-297.

Vico, L., Pouget, J.F., Calmels, P., Chatard, J.C., Rehalia, M., Minaire, P., Geysant, A., Alexandre, C., 1995. The relations between physical ability and bone mass in women aged over 65 years. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 10, 374-383.

Vignos, P.J., Jr., Watkins, M.P., 1966. The effect of exercise in muscular dystrophy. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 197, 843-848.

Vincent, L., Oyono-Enguelle, S., Feasson, L., Banimbek, V., Dohbobga, M., Martin, C., Thiriet, P., Francina, A., Dubouchaud, H., Sanchez, H., Chapot, R., Denis, C., Geysant, A., Messonnier, L., 2012. Effects of regular physical activity on skeletal muscle structural, energetic, and microvascular properties in carriers of sickle cell trait. *J Appl Physiol* 113, 549-556.

Voet, N.B., Bleijenberg, G., Padberg, G.W., van Engelen, B.G., Geurts, A.C., 2010a. Effect of aerobic exercise training and cognitive behavioural therapy on reduction of chronic fatigue in patients with facioscapulohumeral dystrophy: protocol of the FACTS-2-FSHD trial. *BMC neurology* 10, 56.

Voet, N.B., van der Kooi, E.L., Riphagen, II, Lindeman, E., van Engelen, B.G., Geurts, A., 2010b. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, CD003907.

Voet, N.B., van der Kooi, E.L., Riphagen, II, Lindeman, E., van Engelen, B.G., Geurts, A., 2013. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *The Cochrane database of systematic reviews* 7, CD003907.

Wakayama, Y., 1976. Electron microscopic study on the satellite cell in the muscle of Duchenne muscular dystrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* 35, 532-540.

- Ware, J.E., Jr., Sherbourne, C.D., 1992. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Medical care* 30, 473-483.
- Ware, N.C., Hopper, K., Tugenberg, T., Dickey, B., Fisher, D., 2008. A theory of social integration as quality of life. *Psychiatric services (Washington, D.C.)* 59, 27-33.
- Warren, G.L., Hermann, K.M., Ingalls, C.P., Masselli, M.R., Armstrong, R.B., 2000. Decreased EMG median frequency during a second bout of eccentric contractions. *Med Sci Sports Exerc* 32, 820-829.
- Watkins, S.C., Cullen, M.J., 1988. A quantitative study of myonuclear and satellite cell nuclear size in Duchenne's muscular dystrophy, polymyositis and normal human skeletal muscle. *Anat Rec* 222, 6-11.
- Weintraub, H., Davis, R., Tapscott, S., Thayer, M., Krause, M., Benezra, R., Blackwell, T.K., Turner, D., Rupp, R., Hollenberg, S., et al., 1991. The myoD gene family: nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science (New York, N.Y.)* 251, 761-766.
- Wenger, H.A., Bell, G.J., 1986. The interactions of intensity, frequency and duration of exercise training in altering cardiorespiratory fitness. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)* 3, 346-356.
- Westerblad, H., Lee, J.A., Lannergren, J., Allen, D.G., 1991. Cellular mechanisms of fatigue in skeletal muscle. *The American journal of physiology* 261, C195-209.
- Wigmore, P.M., Dunglison, G.F., 1998. The generation of fiber diversity during myogenesis. *The International journal of developmental biology* 42, 117-125.
- Wigmore, P.M., Evans, D.J., 2002. Molecular and cellular mechanisms involved in the generation of fiber diversity during myogenesis. *International review of cytology* 216, 175-232.
- Wigmore, P.M., Stickland, N.C., 1983. Muscle development in large and small pig fetuses. *J Anat* 137 (Pt 2), 235-245.
- Wijmenga, C., Frants, R.R., Brouwer, O.F., Moerer, P., Weber, J.L., Padberg, G.W., 1990a. Location of facioscapulohumeral muscular dystrophy gene on chromosome 4. *Lancet* 336, 651-653.
- Wijmenga, C., Frants, R.R., Brouwer, O.F., van der Klift, H.M., Meera Khan, P., Padberg, G.W., 1990b. Facioscapulohumeral muscular dystrophy gene in Dutch families is not linked to markers for familial adenomatous polyposis on the long arm of chromosome 5. *J Neurol Sci* 95, 225-229.
- Wijmenga, C., Frants, R.R., Hewitt, J.E., van Deutekom, J.C., van Geel, M., Wright, T.J., Padberg, G.W., Hofker, M.H., van Ommen, G.J., 1993. Molecular genetics of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 3, 487-491.
- Wilson, J.M., Marin, P.J., Rhea, M.R., Wilson, S.M., Loenneke, J.P., Anderson, J.C., 2012. Concurrent training: a meta-analysis examining interference of aerobic and resistance exercises. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association* 26, 2293-2307.
- Wilson, T.M., Tanaka, H., 2000. Meta-analysis of the age-associated decline in maximal aerobic capacity in men: relation to training status. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 278, H829-834.
- Wohlgemuth, M., van der Kooi, E.L., van Kesteren, R.G., van der Maarel, S.M., Padberg, G.W., 2004. Ventilatory support in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 63, 176-178.
- Wolfe, R.R., 2006. The underappreciated role of muscle in health and disease. *The American journal of clinical nutrition* 84, 475-482.
- Wright, N.C., Kilmer, D.D., McCrory, M.A., Aitkens, S.G., Holcomb, B.J., Bernauer, E.M., 1996. Aerobic walking in slowly progressive neuromuscular disease: effect of a 12-week program. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 77, 64-69.

- Yamin, C., Amir, O., Sagiv, M., Attias, E., Meckel, Y., Eynon, N., Sagiv, M., Amir, R.E., 2007. ACE ID genotype affects blood creatine kinase response to eccentric exercise. *J Appl Physiol* 103, 2057-2061.
- Yu, J.G., Carlsson, L., Thornell, L.E., 2004. Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study. *Histochem Cell Biol* 121, 219-227.
- Zammit, P.S., Golding, J.P., Nagata, Y., Hudon, V., Partridge, T.A., Beauchamp, J.R., 2004. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? *J Cell Biol* 166, 347-357.
- Zammit, P.S., Relaix, F., Nagata, Y., Ruiz, A.P., Collins, C.A., Partridge, T.A., Beauchamp, J.R., 2006. Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *Journal of cell science* 119, 1824-1832.
- Zatz, M., Marie, S.K., Cerqueira, A., Vainzof, M., Pavanello, R.C., Passos-Bueno, M.R., 1998. The facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD1) gene affects males more severely and more frequently than females. *American journal of medical genetics* 77, 155-161.

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

A. Publications issues des travaux de thèse

Bankolé LC, Millet GY, Temesi J, Bachasson D, Wuyam B, Kadi F, Antoine JC, Féasson L, Safety and efficacy of a 6-month supervised and home-based exercise program in individuals with facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). (*Article en cours de préparation*)

Bachasson D, Temesi J, **Bankolé C**, Lagrange E, Boutte C, Millet GY, Verges S, Levy P, Féasson L, Wuyam B. (2013) Quadriceps strength and fatigue assessed by femoral nerve magnetic stimulation in myogenic and neurogenic disorders. *Clinical Neurophysiology*, Aug 31. (*Article 2*)

Bankolé LC, Féasson L, Ponsot E, Kadi F. (2013) Fibre type-specific satellite cell content in two models of muscle disease. *Histopathology*. Dec; 63(6): 826-32. (*Article 1*)

Bankolé LC, Féasson L. (2011) Active physical exercise and rehabilitation training in myopathies. *Journal de réadaptation médicale*. 207:1-5
(*Article en annexe*)

B. Communications orales et affichées

Bankolé C, Millet GY, Temesi J, Wuyam B, Bachasson D, Kadi F, Antoine JC et Féasson L. Exercise therapy and FSHD : Randomized et controlled trial over 6 months - *19th EPMR – 29th SOFMER* - 26 Mai 2014 (Marseille) – Présentation orale

Bakolé C. Thérapie par l'exercice et FSHD : résultats de l'essai contrôlé randomisé sur 6 mois. *Journée du FSHD Rhône-Alpes* - Mars 2014 (Villefontaine) – communication orale

Bankolé C, Kadi F, Ponsot E et Féasson L. Étude du processus régénératif musculaire dans deux modèles de maladies musculaires - *11^{ème} Journées Annuelles de la Société Française de Myologie (SFM)* - Novembre 2013 (Montpellier) - Communication Orale et Poster.

Bankolé C, Millet GY, Temesi J, Wuyam B, Bachasson D, Kadi F, Antoine JC et Féasson L. (2013). Exercice et FSHD : Effets d'un programme d'entraînement mixte de 6 mois dans le mode de vie de patients porteurs d'une FSHD. Bénéfices tissulaires, fonctionnels et de qualité de vie. In *Colloque jeunes chercheurs AFM Téléthon*. (Parc floral de Paris). Poster.

Bankolé C, Millet GY, Temesi J, Wuyam B, Bachasson D, Kadi F, Antoine JC, Carlier P et Féasson L. (2012). Exercice et FSHD : Résultats préliminaires des effets d'un programme d'entraînement de 6 mois. Etude contrôlée randomisée. In *10^{èmes} Journées Annuelles de la Société Française de Myologie*. (Grenoble). Communication Orale et Poster

Bankolé C. Exercice et FSHD : Résultat préliminaire de l'essai randomisée de 6 mois
Journée Restitution des résultats de l'étude aux sujets – (St Etienne) - Décembre 2012.

ANNEXES

Annexe 1 : Bankolé LC & Féasson L, 2011. J Réad Med.

Article de revue

Travail musculaire actif et réentraînement à l'effort dans les myopathies

Active physical exercise and rehabilitation training in myopathies

L C. BANKOLE, MSc¹ & L. FEASSON, MD, PhD¹

¹ Laboratoire de Physiologie de l'Exercice - EA 4338, Université J Monnet St Etienne & Unité de Myologie,
CHU de St Etienne, 42 055 Cedex 2, France.

@-mail : Leonard.Feasson@chu-st-etienne.fr; @-mail : senakpon.landry.bankole@univ-st-etienne.fr



1

2 Reçu le :
7 juillet 2011
3 Accepté le :
21 juillet 2011

4

5

6 Q1 Disponible en ligne sur

7 ScienceDirect

8 www.sciencedirect.com

9

10 Q2

11

Travail musculaire actif et réentraînement à l'effort dans les myopathies

Active physical exercise and rehabilitation training in myopathies

L.C. Bankolé^{a,b}, L. Féasson^{a,b,*}

^a Laboratoire de physiologie de l'exercice, EA 4338, université Jean-Monnet, 42100 Saint-Étienne, France

^b Unité de myologie, CHU de Saint-Étienne, 42055 Saint-Étienne cedex 2, France

Summary

It is now accepted that physical activity is not deleterious in myopathic populations. While there is no cure, physical exercise appears to counteract muscular loss and deconditioning. Current research suggests that well-adapted supervised training programs in myopathic populations lead to improved cardiovascular fitness and psychological health and decreased cardiovascular risk. For this, training must be monitored, adapted and planned by a professional familiar with the physiopathology (e.g. dystrophy, mitochondrial myopathy, myositis) and capacity of the individual patient. Few randomized control trials have been conducted on supervised training programs in myopathic populations and only one followed patients for a year. Thus, myopathy-specific training guidelines are limited because little data exists on which to base recommendations. General consensus indicates that a mixed exercise program combining endurance and strength exercise is more efficient in myopathic populations. In this article, we report the most relevant terms that improve the cardio-respiratory and function capacities and get more psychological benefits and quality of life in the myopathic patient.

© 2011 Published by Elsevier Masson SAS.

Keywords: Myopathy, Physical training, Endurance, Strength

Résumé

Longtemps mise en cause dans les myopathies, la pratique de l'exercice physique semble avoir fait la preuve de son innocuité. En l'absence d'un traitement curatif, la thérapie par l'exercice physique élargie à l'ensemble des maladies neuromusculaires est un moyen démontré pour lutter efficacement contre le déconditionnement à l'effort renforcé. Lorsqu'il est bien adapté, l'entraînement aboutit à des bénéfices musculaires fonctionnels. C'est pour cette raison qu'il est important que l'entraînement soit adapté et suivi au cas par cas par un professionnel spécialiste des activités physiques employées. Il devra tenir compte non seulement de la nature de l'atteinte du patient (dystrophie, myopathie mitochondriale, myosites, etc.), mais aussi de ses capacités propres. Cependant, la littérature rapporte peu d'études contrôlées et randomisées et, le plus souvent, conduites sur des périodes restreintes et étroitement supervisées en laboratoire. Les résultats obtenus restent disparates et dépendent en grande partie du type d'activités physiques proposé et du type de myopathie. Néanmoins, un consensus général se dégage : un programme d'entraînement accompagné combinant exercices en endurance et exercices ciblés en force selon le type de myopathie est plus efficace. Nous rapportons, dans cet article, les modalités les plus pertinentes qui permettent d'améliorer les capacités cardiorespiratoires et fonctionnelles et d'obtenir les bénéfices psychologiques et de qualité de vie chez des myopathes.

© 2011 Publié par Elsevier Masson SAS.

Mots clés : Myopathie, Entraînement physique, Endurance, Force, Thérapie

* Auteur correspondant.

e-mail : Leonard.Feasson@chu-st-etienne.fr

INTRODUCTION

Depuis plusieurs décennies, la pratique de l'exercice musculaire est largement reconnue comme un facteur positif en terme de santé publique. Cependant, il a fallu attendre ces dernières années, pour admettre l'intérêt de la pratique de l'exercice physique adaptée dans le contexte précis des myopathies. Cette relative retenue s'explique par la fatigabilité et par la potentielle fragilité des muscles des patients concernés. Mais à l'instar de la population générale, la pratique d'activités physiques adaptées dans le cadre des maladies neuromusculaires a montré son innocuité et son intérêt s'est accru avec les premiers consensus publiés au début des années 2000 et les nombreuses études consacrées à cette thématique (pour revue Féasson et al. 2010). En l'absence de traitement curatif, une thérapie par l'exercice appropriée et bien conduite peut représenter une alternative palliative de lutte contre la perte progressive des capacités physiques de ces patients et parfois même contre l'amyotrophie aggravée par leur « ultra sédentarité ». Cet article, propose tout d'abord un rapide survol des caractéristiques des différents types d'exercice et des contraintes mécaniques musculaires qui en résultent. Les principales recommandations pratiques de la thérapie par l'exercice sont ensuite rapportées en ciblant les préconisations utiles aux accompagnants médicaux et paramédicaux de ces patients, en pointant plus particulièrement les écueils à éviter.

1- Généralités sur les types d'exercices

L'entraînement physique est classiquement distingué selon deux modalités d'exercice musculaire :

- L'exercice d'intensité modérée et de durée plus ou moins longue communément appelé exercice d'endurance. Il met en jeu le métabolisme aérobie qui repose essentiellement sur l'oxydation des hydrates de carbone, puis la bêta - oxydation des lipides. Ce type d'exercice peut engendrer entre autres effets potentiels, une résistance à l'effort prolongé, une amélioration des aptitudes cardio-vasculaires. Les paramètres reflétant ces aptitudes sont la consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_2max$) et la cinétique de $\dot{V}O_2$.

- L'exercice d'intensité maximale et de durée brève communément appelé exercice en force. Il met davantage en jeu le métabolisme anaérobie. Les paramètres de mesures fonctionnelles sont principalement la contraction maximale volontaire (CMV) et la lactatémie maximale.

Lorsqu'il s'agit de proposer un programme d'entraînement à l'exercice, qu'il soit principalement orienté vers l'endurance, la force ou de type combiné, il convient de définir

non seulement la modalité d'exercice, mais aussi son intensité et sa durée. Il convient également de choisir les meilleurs paramètres d'évaluation car il est important d'en apprécier les bénéfices à plus ou moins long terme. Enfin, dans ce contexte de travail musculaire actif chez des patients neuromusculaires, une bonne connaissance des conséquences physiologiques et musculaires de l'exercice permet une meilleure prescription.

2- Contraintes mécaniques imposées au muscle : des lésions mais aussi des adaptations.

Il est connu depuis longtemps que l'exercice musculaire peut provoquer des douleurs et une fatigue les jours suivants la pratique de l'activité physique. Ce phénomène est le plus souvent rapporté sous le vocable de « courbatures ». Les anglo-saxons définissent ces symptômes relativement bénins par Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS). Associé à la douleur différée et s'installant en quelques jours après un effort le plus souvent inhabituel, il est possible de mettre à jour un déficit de force ou en tout cas une limitation fonctionnelle significative. C'est par une étude ultra structurale du muscle en microscopie électronique que les conséquences de cette contrainte mécanique excessive peuvent être observées. Des micro bavures des sarcomères sont alors retrouvées et plus particulièrement au niveau de la strie Z, où sont transmises les tensions les plus importantes. Lors d'une sollicitation excentrique, malgré un coût énergétique moindre, ce phénomène est souvent plus sévère, car dans cette situation d'étirement, pour une même vitesse de mobilisation musculaire donnée, la tension exercée sur les sarcomères est encore plus importante. Cependant, une contraction concentrique de forte intensité peut également occasionner les courbatures. L'autre facteur favorisant leur survenue est l'aspect inhabituel de la sollicitation pour un muscle, expliquant que ces sensations soient majorées chez l'individu sédentaire. Le point important à retenir est que la reproduction d'un exercice est spontanément suivie d'une diminution de l'intensité, voire de la disparition des symptômes liés à cet exercice (Hough, 1902 ; Stupka et al.2001). Cette adaptation aux courbatures témoigne de la plasticité du muscle à l'exercice. Cette adaptation protectrice de l'exercice initial sur les suivants, communément appelée « the repeated bout effect », peut porter sur quelques jours à plusieurs semaines en fonction du type de contraction (Clarkson et Tremblay. 1988 ; Brown et al. 1997 ; Nosaka et al. 2001). Le processus reposerait sur un renforcement de la structure du sarcomère, une harmonisation des myofibrilles et une activation des voies de signalisation agissant sur le contrôle de la masse musculaire en faveur de la synthèse protéique (Barash et al. 2002 ; Feasson et al. 2002 ; Proske et Morgan. 2001 ; Favier et al. 2008).

Il est donc important de prendre en compte ces données lorsqu'il s'agit de proposer un programme d'activité physique et plus encore dans le cadre de muscles fragilisés par une maladie neuromusculaire.

3- L'exercice musculaire dans le contexte des myopathies

La grande diversité des myopathies impose des contraintes de prescription et d'évaluation. Le principal élément à prendre en compte dans la mise en place d'un protocole d'entraînement physique sera de considérer les limites de la tolérance du patient à l'effort en fonction des caractéristiques physiopathologiques de sa maladie. De ce fait, il est évident qu'il n'est pas possible de définir un protocole standard en termes d'intensité, de charge, pour toutes les myopathies, mais il est important de prendre chaque type de myopathie comme un cas particulier. L'objectif principal de ce programme doit viser en priorité **l'amélioration de l'aptitude fonctionnelle et de l'autonomie.**

a- Données générales et bénéfices escomptés

Une revue détaillée de la littérature montre qu'il existe de très nombreux cas cliniques mais peu d'études contrôlées, voire randomisées et une grande diversité de protocoles. Cependant les principales méta-analyses de ces études (Van der Kooi et al. 2005 ; Cup et al. 2007 ; Voet et al. 2010) rapportent les conclusions suivantes :

- Effets secondaires délétères nuls ou négligeables
- Bénéfices fonctionnels possibles
- Limitation de l'amyotrophie
- En revanche, peu de bénéfices à la simple évaluation de la force
- Limitation du déconditionnement cardio-respiratoire et métaboliques lié à la sédentarité
- Bénéfices psychologiques indéniables

b- Quelles modalités d'exercice pour quel type de myopathie ?

Toujours d'après ces méta-analyses, il semble plus **avantageux** de proposer un **entraînement combiné** constitué d'un « fond » d'**exercices d'endurance**, qui ont assez clairement fait leur preuve (Sveen et al. 2008 ; Olsen and al. 2005) associés à des exercices de **renforcements musculaires ciblés et d'intensité sous maximale** (Wiesinger et al. 2000). L'entraînement par exercices intermittents d'intensités choisies permet d'obtenir des résultats satisfaisant et de façon plus ludique grâce aux variations de l'exercice qui permettent de

rompre la monotonie habituelle. Il convient de moduler avec prudence les charges d'exercices de renforcement en fonction du patient et des muscles sollicités.

Si l'accompagnement ne peut être approprié ou si la mise en œuvre d'un tel programme s'avère complexe pour le patient, l'entraînement pourra se restreindre à une activité aérobie seule. Même si l'efficacité semble moindre, la tolérance d'un tel type d'entraînement semble la meilleure et trouve son intérêt, en particulier dans les dystrophies où le muscle est reconnu plus fragile (Sveen et al. 2008 ; Olsen and al. 2005), mais aussi dans les myopathies inflammatoires (Wiesinger et al. 1998) et les myopathies métaboliques (Haller et al. 2006). Les résultats des tests physiologiques des études les plus pertinentes montrent une amélioration de la capacité oxydative traduite par une augmentation significative de la puissance maximale aérobie (PMA) et de la consommation maximale d'oxygène (VO_2max), des bénéfices indéniables sur les capacités cardiorespiratoires et une amélioration évidente de la qualité de vie. La progression des mesures analytiques de la force de groupes musculaires sollicités et une meilleure tolérance à l'effort dans les activités quotidiennes de la vie sont également souvent au rendez-vous.

En revanche, les données rapportées sur l'entraînement exclusivement en force restent assez disparates voire contradictoires. L'exercice intense et à fortiori comprenant une forte composante excentrique reste très critiqué et plus particulièrement pour les pathologies évolutives comme les dystrophies. Malgré l'absence d'études contrôlées et randomisées, ce type d'entraînement envisagé seul, peut cependant trouver son intérêt pour des myopathies stables ou faiblement progressives et selon des modalités définies au cas par cas. Dans ce type d'entraînement en particulier, il est à noter que le gain de force n'est pas systématiquement suivi d'améliorations fonctionnelles notables.

c- Quelques illustrations pratiques

Dans le tableau 1, des exemples concrets issus de la littérature sont rapportés selon le contexte pathologique, les modalités d'exercice utilisées, les résultats obtenus et les limites opposables à ces études récentes. Aux cotés de résultats globalement satisfaisants observés dans des études basées sur l'entraînement aérobie (Sveen et al. 2008; Haller et al. 2006), sont présentés trois programmes d'exercices de renforcement. Un premier, très simple et visiblement efficace est ciblé sur la préhension (Aldehag et al. 2005), un deuxième plus intense et global illustre les limites de la tolérance bien qu'il soit proposé dans un contexte de myosite peu déficitaire (Alexanderson et al. 2007), et un troisième (Murphy et al. Brain 2008) au rationnel original visant à argumenter l'intérêt d'associer le travail en force dans des

myopathies mitochondriales pour lesquelles, la même équipe a déjà montré le bénéfice et l'innocuité de l'entraînement en endurance (Taivassalo et al. 1998, 2001, 2004, 2006 ; Jeppesen 2006).

Tableau 1 : Exemples de programmes d'entraînement dans diverses myopathies.

<i>Contexte de l'étude</i>	<i>Méthodes</i>	<i>Résultats</i>	<i>Limites</i>
Sveen et al. Brain 2008 Dystrophie musculaire de Becker N = 11	- Entraînement aérobie sur cycloergomètre - à FC de 65% de VO ₂ max - Montée progressive de 1 à 5 séances de 30min par semaine - Durée : 3 mois	- Observance : 94% - VO ₂ max : + 47% - PMA : + 80% - Force segmentaire membres inférieures : +13% à +40% - CK et dystrophie tissulaire : stables - Maintien des bénéfices à 1 an	-Absence d'évaluation fonctionnelle - Absence de contrôles pathologiques appariés et de randomisation
Aldehag et al. Occup Ther Int 2005 Myotonie de Steinert N = 5	- Travail en force ciblé - 3 à 5 séries de handgrip - 3 séances par semaine - Durée : 3 mois	- Amélioration de la force - Amélioration de la fonction manuelle	- Peu de patients - Absence de contrôle et de randomisation - Effet sur les myotonies ?
Haller et al. Ann Neurol 2006 Glycogénose de type V (Mc Ardle) N = 8	- Entraînement aérobie sur cycloergomètre - 65% de la FCmax - 4 séances de 35min par semaine - durée de 3 mois	- Excellente observance - VO ₂ max : +14% - PMA : +36% - Activité oxydative de citrate synthase : +80% - CK et statut tissulaire : stables	- Absence d'évaluations fonctionnelles de qualité de vie - Absence de contrôle et de randomisation
Alexanderson et al. Arthritis & Rheumatism 2007 Myosites chroniques N = 9	- Travail en force intensif contre poids - 5 groupes musculaires - 10 à15 répétitions à 70% de la force maximale - 3 séances de 45min par semaine - Durée : < 2 mois	- Bonne observance - Stabilité des critères inflammatoires de la myosite - Forces segmentaires : +33% à +47 % - Pas de bénéfice fonctionnel	- Arrêt prématuré - Apparition de douleurs articulaires et tendineuses - Absence de contrôle et de randomisation
Murphy et al. Brain 2008 Délétion ADNmt N = 8	-Travail en force des quadriceps - 3 séances de 6 à 8 séries d'extensions - à 80-85% de la force maximale - Durée : 3 mois	- Observance : 75% - Force : +15% à +25 % - Activation oxydative : +33% - Marqueurs de régénération de +200% à +300% - CK et qualité de vie : stables	- Objectif d'amélioration de l'hétéroplasmie d'ADNmt par activation des cellules satellites : non atteint - Absence de contrôle et de randomisation

4- La thérapie par l'exercice en 10 leçons

Dix recommandations s'avèrent utiles pour mener à bien le projet de la thérapie par l'exercice dans le cadre des myopathies.

a- Recommandations aux patients pouvant accéder à une activité non médicalisée

- 1- L'éducation thérapeutique consiste à encourager le patient à considérer la pratique de l'activité physique comme un mode de vie.
- 2- Proposer des pratiques diversifiées, récréatives, ludiques favorisant l'estime de soi et la socialisation.
- 3- Imaginer des possibilités d'accès ou des adaptations aux pratiques (association ou club attentifs au handicap).
- 4- Démédicaliser les pratiques tout en conservant un suivi régulier pour proposer des exercices musculaires guidés, un sport adapté et pour apprendre à détecter le seuil de fatigue à ne pas franchir.
- 5- Introduire une auto évaluation régulière et systématique (carnet d'entraînement et EVA douleur/fatigue)

b- Recommandations aux soignants pour des activités physiques encadrées

- 1- Adapter l'exercice aux caractéristiques physiques du patient et à sa situation pratique et sociale selon le niveau de force résiduelle (contre résistance > contre pesanteur > en actif aidé > en balnéothérapie)
- 2- Privilégier l'entraînement mixte aérobie et en force orienté avec des exercices dynamiques concentriques pour les muscles des membres. Les exercices isométriques voire l'électrophysiologie peuvent trouver leur place pour la musculature axiale du tronc et du cou.
- 3- Eviter les exercices excentriques ou statiques de forte intensité et/ou prolongés surtout dans le cas des dystrophies.
- 4- Pour les myopathies les plus évoluées ou les plus fragiles (dystrophies), l'exercice est donc dynamique concentrique, d'intensité modérée à faible, en séances assez fréquentes (20 à 40min) et espacées d'une journée de récupération. Les fonctions dominantes favorisant l'équilibre, la marche, les transferts, les retournements sont priorisées.
- 5- Surveillance régulière, surtout clinique et par des bilans fonctionnels et les résultats de l'auto-évaluation.

Conclusion

A défaut de traitement curatif, il est aujourd'hui admis que la pratique de l'exercice physique peut être envisagée comme une alternative thérapeutique dont le but est d'améliorer ou à défaut de maintenir les fonctions motrices du patient myopathe. Cette initiation à la pratique sportive doit être encouragée et supervisée par le médecin rééducateur en partenariat avec le kinésithérapeute qui amorce et adapte l'activité. Un accompagnement spécialisé par un moniteur d'activité physique adaptée (filière professionnelle STAPS) en structure d'accueil ou à domicile pourrait légitimement trouver sa place.

Références

- Aldehag AS**, Jonsson H, Ansved T. Effects of a hand training programme in five patients with myotonic dystrophy type 1. *Occup Ther Int* 2005;12:14–27.
- Alexanderson H**, Dastmalchi M, Esbjornsson-Liljedahl M, Opava CH, Lundberg IE. Benefits of intensive resistance training in patients with chronic polymyositis or dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2007;57:768–77.
- Cup EH**, Pieterse AJ, Ten Broek-Pastoor JM, Munneke M, van Engelen BG, Hendricks HT, et al. Exercise therapy and other types of physical therapy for patients with neuromuscular diseases: a systematic review. *Arch Phys Med Rehabil* 2007;88:1452–64.
- Féasson L**, Verney J, Kadi F, Gautheron V, Calmels P, Millet GY. Exercise therapy and myopathies *Rev Neurol* 2010 Mar;166(3):269-78.
- Haller RG**, Wyrick P, Taivassalo T, Vissing J. Aerobic conditioning: an effective therapy in McArdle's disease. *Ann Neurol* 2006;59:922–8.
- Jeppesen TD**, Schwartz M, Olsen DB, Wibrand F, Krag T, Duno M, et al. Aerobic training is safe and improves exercise capacity in patients with mitochondrial myopathy. *Brain* 2006;129:3402–12.
- Murphy JL**, Blakely EL, Schaefer AM, He L, Wyrick P, Haller RG, et al. Resistance training in patients with single, large-scale deletions of mitochondrial DNA. *Brain* 2008;131:2832–40.
- Sveen ML**, Jeppesen TD, Hauerlev S, Kober L, Krag TO, Vissing J. Endurance training improves fitness and strength in patients with Becker muscular dystrophy. *Brain* 2008;131:2824–31.
- Taivassalo T**, De Stefano N, Argov Z, Matthews PM, Chen J, Genge A, et al. Effects of aerobic training in patients with mitochondrial myopathies. *Neurology* 1998;50:1055–60.
- Taivassalo T**, Gardner JL, Taylor RW, Schaefer AM, Newman J, Barron MJ, et al. Endurance training and detraining in mitochondrial myopathies due to single large-scale

mtDNA deletions. *Brain* 2006;129:3391–401.

Taivassalo T, Haller RG. Implications of exercise training in mtDNA defects—use it or lose it? *Biochim Biophys Acta* 2004;1659:221–31.

Taivassalo T, Shoubridge EA, Chen J, Kennaway NG, DiMauro S, Arnold DL, et al. Aerobic conditioning in patients with mitochondrial myopathies: physiological, biochemical and genetic effects. *Ann Neurol* 2001;50:133–41.

van der Kooi EL, Lindeman E and Riphagen I. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;1:CD003907.

Wiesinger GF, Quittan M, Nuhr M, Volc-Platzer B, Ebenbichler G, Zehetgruber M, et al. Aerobic capacity in adult dermatomyositis/polymyositis patients and healthy controls. *Arch Phys Med Rehabil* 2000;81:1–5.

Annexe 2 : ECHELLE D'ETAT DE SANTE SF-36

Comment remplir le questionnaire:

Le questionnaire suivant a pour but d'évaluer votre qualité de vie.

Nous vous prions de bien vouloir tenir compte des instructions suivantes :

- Lisez attentivement chaque question et l'ensemble des réponses proposées
- Pour chaque question, entourez la case qui correspond le mieux à votre cas
- Assurez-vous de ne choisir qu'une seule réponse pour chaque question
- Répondez à toutes les questions aussi sincèrement que possible ; il n'y a pas de bonnes ou mauvaises réponses. Ce qui compte, c'est ce que vous pensez et ce que vous ressentez à propos de votre état.
- Vérifiez que vous avez bien répondu à toutes les questions avant de rendre le questionnaire à votre médecin ;

Nous vous remercions de votre participation.

1. Dans l'ensemble, pensez-vous que votre santé est:

(Entourez la réponse de votre choix)

- Excellente..... 1
 Très bonne..... 2
 Bonne 3
 Médiocre 4
 Mauvaise 5

2. Par rapport à l'année dernière à la même époque, comment trouvez-vous votre état de santé en ce moment?

(entourez la réponse de votre choix)

- Bien meilleur que l'an dernier 1
 Plutôt meilleur 2
 À peu près pareil 3
 Plutôt moins bon 4
 Beaucoup moins bon 5

3. Voici une liste d'activités que vous pouvez avoir à faire dans votre vie de tous les jours. Pour chacune d'entre elles indiquez si vous êtes limité(e) en raison de votre état de santé actuel.

Liste d'activités	OUI, beaucoup limité(e)	OUI, un peu limité(e)	NON, pas du tout limité(e)
Efforts physiques importants tels que courir, soulever un objet lourd, faire du sport	1	2	3
Efforts physiques modérés tels que déplacer une table, passer l'aspirateur, jouer aux boules	1	2	3
Soulever et porter les courses	1	2	3
Monter plusieurs étages par l'escalier	1	2	3
Monter un étage par l'escalier	1	2	3
Se pencher en avant, se mettre à genoux, s'accroupir	1	2	3
Marcher plus d'un km à pied	1	2	3
Marcher plusieurs centaines de mètres	1	2	3
Marcher une centaine de mètres	1	2	3
Prendre un bain, une douche ou s'habiller	1	2	3

(entourez la réponse de votre choix, une par ligne)

4. Au cours de ces 4 dernières semaines, et en raison de votre état physique,

(entourez la réponse de votre choix, une par ligne)

	OUI	NON
a. avez-vous réduit le temps passé à votre travail ou à vos activités habituelles ?	1	2
b. avez-vous accompli moins de choses que vous auriez souhaité ?	1	2
c. avez-vous dû arrêter de faire certaines choses ?	1	2
d. avez-vous eu des difficultés à faire votre travail ou toute autre activité (par exemple, cela vous a demandé un effort supplémentaire) ?	1	2

5. Au cours de ces 4 dernières semaines, et en raison de votre état émotionnel (comme vous sentir triste, nerveux(se) ou déprimé(e))

(entourez la réponse de votre choix, une par ligne)

	OUI	NON
a. avez-vous réduit le temps passé à votre travail ou à vos activités habituelles ?	1	2
b. avez-vous accompli moins de choses que vous auriez souhaité ?	1	2
c. avez-vous eu des difficultés à faire ce que vous aviez à faire avec autant de soin et d'attention que d'habitude ?	1	2

6. Au cours de ces 4 dernières semaines dans quelle mesure votre état de santé, physique ou émotionnel, vous a-t-il gêné(e) dans votre vie sociale et vos relations avec les autres, votre famille, vos amis, vos connaissances?

(entourez la réponse de votre choix)

- Pas du tout..... 1
- Un petit peu..... 2
- Moyennement..... 3
- Beaucoup..... 4
- Énormément..... 5

7. Au cours de ces 4 dernières semaines, quelle a été l'intensité de vos douleurs physiques?

(entourez la réponse de votre choix)

- Nulle..... 1
- Très faible 2
- Faible..... 3
- Moyenne..... 4
- Grande..... 5
- Très grande..... 6

8. Au cours de ces 4 dernières semaines, dans quelle mesure vos douleurs physiques vous ont-elles limité(e) dans votre travail ou vos activités domestiques?

(entourez la réponse de votre choix)

- Pas du tout..... 1
- Un petit peu..... 2
- Moyennement..... 3
- Beaucoup..... 4
- Énormément..... 5

9. Les questions qui suivent portent sur comment vous vous êtes senti(e) au cours de ces 4 dernières semaines. Pour chaque question, veuillez indiquer la réponse qui vous semble la plus appropriée. Au cours de ces 4 dernières semaines, y a-t-il eu des moments où:

(entourez la réponse de votre choix, une par ligne)

	En permanence	Très souvent	Souvent	Quel-que fois	Rarement	Jamais
a. vous vous êtes senti(e) dynamique ?	1	2	3	4	5	6
b. vous vous êtes senti(e) très nerveux(se) ?	1	2	3	4	5	6
c. vous vous êtes senti(e) si découragé(e) que rien ne pouvait vous remonter le moral?	1	2	3	4	5	6
d. vous vous êtes senti(e) calme et détendu(e) ?	1	2	3	4	5	6
e. vous vous êtes senti(e) débordant(e) d'énergie?	1	2	3	4	5	6
f. vous vous êtes senti(e) triste et abattu(e) ?	1	2	3	4	5	6
g. vous vous êtes senti(e) épuisé(e) ?	1	2	3	4	5	6
h. vous vous êtes senti(e) heureux(se) ?	1	2	3	4	5	6
i. vous vous êtes senti(e) fatigué(e) ?	1	2	3	4	5	6

10. Au cours de ces 4 dernières semaines, y a-t-il eu des moments où votre état de santé, physique ou émotionnel, vous a gêné(e) dans votre vie sociale et vos relations avec les autres, votre famille, vos amis, vos connaissances?

(entourez la réponse de votre choix)

En permanence.....	1
Une bonne partie du temps.....	2
De temps en temps.....	3
Rarement.....	4
Jamais.....	5

11. Indiquez, pour chacune des phrases suivantes, dans quelle mesure elles sont vraies ou fausses dans votre cas:

(entourez la réponse de votre choix, une par ligne)

	Totalement Vraie	Plutôt vraie	Je ne sais pas	Plutôt fausse	Totalement Fausse
a. je tombe malade plus facilement que les autres	1	2	3	4	5
b. je me porte aussi bien que n'importe qui	1	2	3	4	5
c. je m'attends à ce que ma santé se dégrade	1	2	3	4	5
d. je suis en excellente santé	1	2	3	4	5

VEUILLEZ VÉRIFIER QUE VOUS AVEZ BIEN FOURNI UNE RÉPONSE POUR CHACUNE DES QUESTIONS. MERCI

Annexe 3 : ECHELLE DE SEVERITE DE LA FATIGUE (FSS)

Instructions :

L'échelle de sévérité de la fatigue fournit une série de propositions et vous demande d'évaluer comment vous vous êtes senti(e) pendant la semaine passée.

Veillez lire chacune des propositions ci-dessous et entourez un numéro sur l'échelle de 1 à 7 qui reflète le mieux comment vous vous êtes senti(e) au cours de la semaine passée. Le score 1 indique que vous êtes en désaccord total avec la proposition tandis que le score 7 indique que vous êtes complètement d'accord avec la proposition.

Au cours de la semaine écoulée, j'ai constaté que :	Score
1. Ma motivation est moins bonne quand je suis fatigué(e).	1 2 3 4 5 6 7
2. L'exercice me fatigue.	1 2 3 4 5 6 7
3. Je suis facilement fatigué(e).	1 2 3 4 5 6 7
4. La fatigue gêne mes activités physiques.	1 2 3 4 5 6 7
5. La fatigue me pose des problèmes fréquents.	1 2 3 4 5 6 7
6. Ma fatigue m'empêche d'avoir une activité physique soutenue.	1 2 3 4 5 6 7
7. La fatigue m'empêche de mener à bien certaines obligations et responsabilités.	1 2 3 4 5 6 7
8. La fatigue est l'un des trois symptômes les plus invalidants pour moi.	1 2 3 4 5 6 7
9. La fatigue gêne mon travail, ma vie familiale et sociale.	1 2 3 4 5 6 7

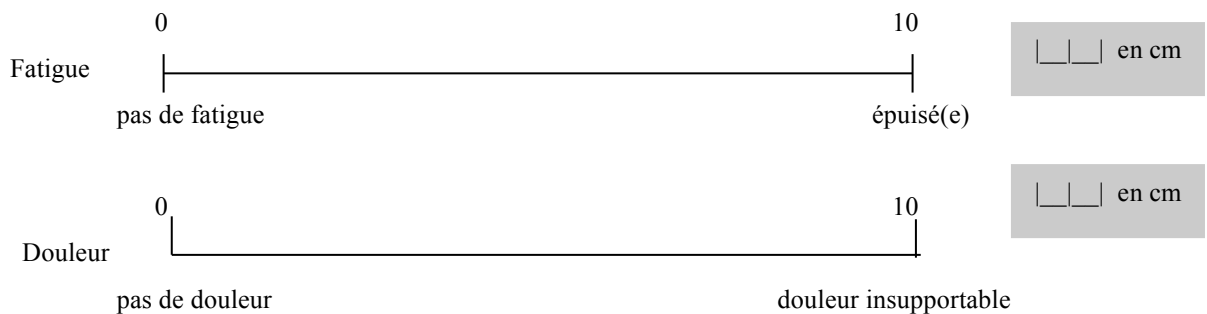
Score : |_|_|

Annexe 4 : EVA – Fatigue / Douleur

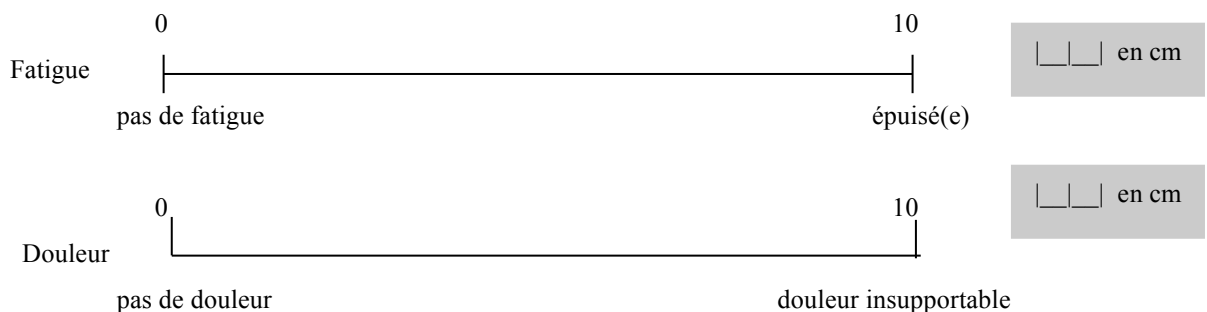
Suivi quotidien de l'état de fatigue et d'intensité de douleurs musculaires

Chaque matin, une à deux heures après votre réveil, situez votre état de forme et l'intensité de vos douleurs musculaires (une valeur moyenne pour l'ensemble de l'organisme) sur les échelles analogiques suivantes (**Si vous oubliez un jour, barrez-le et passez au jour suivant**) :

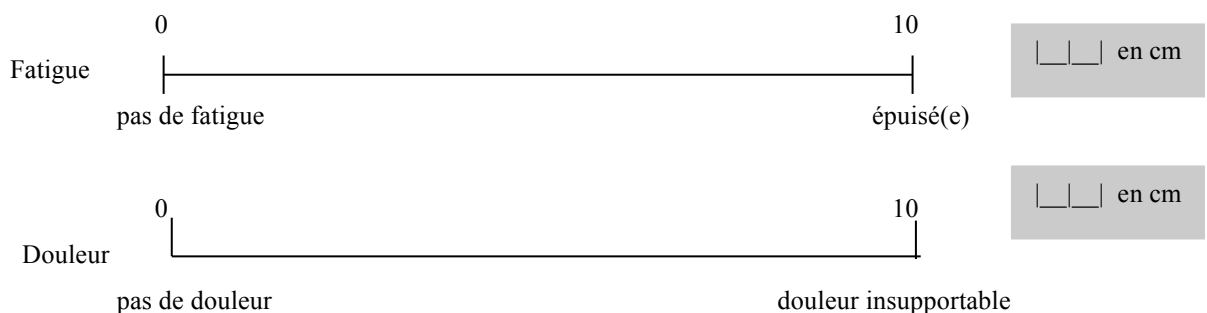
Date : | | 20|| | Heure : h min



Date : | | 20|| | Heure : h min



Date : | | 20|| | Heure : h min



Annexe 5 : Analyses histologiques, immunohistologiques et enzymatiques

- HEMALUN-EOSINE-SAFRAN (H E S)
- IMMUNOHISTOLOGIE PEROXYDASE (ex : Typologie et capillaires)
- PROTOCOLE IMMUNOHISTOCHEMIE Mixte: Pax7 / lam +A4 (Fluor +DAB)
- MESURE SPECTROFLUOROMETRIQUE : CITRATE SYNTHETASE
- MESURE SPECTROFLUOROMETRIQUE : CREATINE PHOSPHOKINASE
- MESURE SPECTROFLUOROMETRIQUE : LACTATE DESHYDROGENASE

HEMALUN-EOSINE-SAFRAN (H E S)

1) Réactifs

- Hémalun à filtrer avant chaque utilisation **5 min**

Rincer à l'eau plusieurs fois

- Eosine **2 min**

Rincer dans 2 bains d'alcool absolu

- Safran **5 min**

Déshydratation dans 3 bains d'alcool: 95°, 100°, 100°

Xylène

Monter à l'Eukitt

2) Résultats

Les noyaux sont colorés en violet (basophile), les cytoplasmes en rose (acidophile) et le collagène en jaune.

PROTOCOLE IMMUNOHISTOLOGIE PEROXYDASE (ex : Typologie et capillaires)

Tris fille pour 500ml :

- 3,03g de Trizma base.
- 4,26g de NaCl.
- 18,5 ml de HCl.
- Ajuster avec de l'eau distillée.
-

TSAB : 1 ml de sérum de bœuf à 30 % pour 100 ml de tris fille :

Sur lame préalablement fixées à l'acétone (10 minutes) et congelées. Les sortir et les laisser sécher 1 heure à température ambiante.

- Laisser les lames dans le TSAB durant **5 min**
- Sécher les lames

1. **Anticorps primaire:** (MyHC) dilution dans le TSAB : (~ 100µl/lame)

1/100 (10µl dans 990µl de TSAB). 2 heures.
Dans une chambre humide (M.I.S.T)

- Rinçage** dans le tris **5 min**
- Passer dans le TSAB durant **5 min**
- Sécher les lames.

2. **Anticorps Secondaire :** (Dako P260) dilution dans TSAB :

1/20 (50µl dans 950µl de TSAB). 1 heure.

- Rinçage dans le tris 2 fois durant **5 min**
- Passer dans le TSAB **5 min**
- Sécher les lames.

3. **Anticorps tertiaire :** (Dako P217) dilution dans le TSAB :

1/20 (50µl dans 950µl de TSAB) **1 heure**

- 4. **Rinçage** dans le tris **2 X 5 min**

5.

6. **Chromogène :** 2 ml de solution mère (i.e., 1 pastille/10ml de tris fille) + 15 μ l eau oxygéné

7. **Incubation :** **1 min30**

8. **Rinçage** **5 X 3 min**

9. .Déshydratation et Montage à l'Eukitt.

PROTOCOLE IMMUNOHISTOCHIMIE Mixte: Pax7 / lam +A4 (Fluor +DAB)

- | | |
|---|-----------------|
| 1- Wash TBS | 5min |
| 2- Normal serum 0 (NS0) | 10min |
| 3- Wash TBS | 5min × 2 |
| 4- Normal Serum 1 Step (NS1 Step) | 5min |
| 5- Wash TBS | 5min × 2 |
| 6- Normal Serum 2 Step (NS2 Step) | 60min |
| 7- Primary Anti Body (mixed in NS2 Step at 1/50 for both Pax7 and CD56) | |

NB: Incubation at 37° for 2 à 3 hours or Overnight.

- | | |
|---|-----------------|
| 8- Wash TBS | 5min × 2 |
| 9- Secondary Anti Body (SAB mixed in BSA 1% at 1/100) | 60 min |
| 10- Wash TBS | 5min × 2 |
| 11- ABC (prepared in PBS) | 60min. |
| 12- Wash TBS | 5min × 2 |
| 13- DAB (Prepared in distilled water) | 8min |
| 14- Wash (Tap water) | 10min |

Continuite with Hématoxyline

- | | |
|------------------------------|---------------|
| 15- Tempered in hématoxyline | 1min30 |
| 16- Wash (Tap water) | 10min |

Following staining

- | | |
|---|-----------------|
| 17- Wash TBS | 5min × 2 |
| 17- 18- Normal Serum 2 Step (NS2 Step) | 60min |
| 18- Primary Anti Body (mixed in NS2 Step at 1/50) | |

NB: Incubation at 37° for 2 - 3 hours or at Overnight.

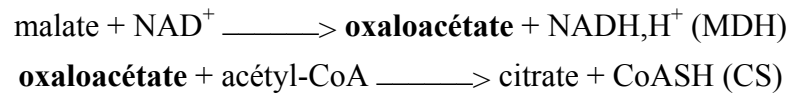
- | | |
|--|-----------------|
| 19- Wash TBS | 5min × 2 |
| 20- Secondary Anti Body : Fluor red ou green (mixed in BSA 1% au 1/100) | |

NB: live slits on darkness in room temperature for 1 hour.

- | | |
|-----------------------------|-----------------|
| 21- Wash TBS | 5min × 2 |
| 22- Mounting at invitrogen. | |

MESURE SPECTROFLUOROMETRIQUE : CITRATE SYNTHETASE

I. Principe de la mesure



Abréviations : CS, citrate synthétase; CoA, coenzyme A; MDH, malate déshydrogénase.

Vaste ext.humain : entre 10 et 30 $\mu\text{moles. min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ tissu sec

II. Réactifs

* Tris 1M pH=8.0

Peser 12.1 g de Tris Base (PM=121.1 g/mol). Compléter jusqu'à 90 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Ajuster à pH=8.0. Ajuster le volume final à 100 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée.

* Acétyl-CoA 5 mM

Dissoudre 10 mg d'acétyl-CoA (Sigma A2056; PM = 809.6 g/mol) avec 2.45 ml $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Aliquoter sous 50 μl et conserver à -20°C . Attention : l'acétyl-CoA une fois décongelé ne peut être recongelé.

* EDTA 200 mM

Peser 584.4 mg d'EDTA (PM = 292,2 g/mol). Compléter jusqu'à 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée. Ajuster éventuellement le pH autour de 7,4-7,5 pour obtenir une meilleure dissolution. Aliquoter sous 500 μl et conserver à -20°C .

* Malate 250 mM

Peser 445 mg de malate (Sigma M-9138, PM= 178.1 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée. Aliquoter sous 250 μl et conserver à -20°C . Comme pour PFK et CK, peser dans 1mL d' H_2O et diluer au 1/10ème.

* MDH (Roche 127 256)

Pig heart.1200 U/mg (5 mg/1 ml) soit 6000 U/ml. Vérifier la concentration en protéine et l'activité qui varie légèrement suivant les lots. Ajuster le volume pour le milieu réactionnel en fonction.

* NAD⁺ 50 mM

Peser 331.7 mg NAD⁺ (Roche127 965; PM=663.4 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée. Aliquoter sous 250 μl et conserver à -20°C .

* NADH,H⁺ 1 mM

Peser 7.1 mg NADH,H⁺ (Roche 107 735; PM=709.4 g/mol). Noter la pesée exactement. Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette

graduée. Recalculer la concentration exacte en fonction de la pesée. Peser dans 1mL d'H₂O puis diluer au 1/10ème.

* Triton X-100 10%

Pipeter 1 ml de Triton X-100. Compléter le volume jusqu'à 10 ml avec ΔH₂O dans une éprouvette graduée. Conserver à température ambiante dans un Falcon 15 ml.

III. Préparation du milieu réactionnel

Les concentrations finales indiquées correspondent aux concentrations finales dans 1 ml dans le tube de mesure.

Solution stock	Volume à rajouter	Concentration finale
Tris 1 M pH=8.0	5 ml	100 mM
EDTA 200 mM	500 µl	2 mM
Malate 250 mM	250 µl	1.25 mM
NAD ⁺ 50 mM	250 µl	0.25 mM
MDH 6000 unités/ml	50 µl	6 unités/ml

Ajuster le volume final à 48.5 ml avec ΔH₂O dans une éprouvette graduée.

NB : Préparer au moins 150mL de MR pour 36 prélèvements.

IV. Etalonnage

On construit la courbe étalon avec des concentrations croissantes de NADH,H⁺ 1mM

* Plan de pipetage pour l'étalonnage

nmoles de NADH,H ⁺	0	2	4	6	8	10
NADH,H ⁺ 1mM, µl	0	2	4	6	8	10
ΔH ₂ O	30	28	26	24	22	20
MR, µl	< _____ 970 µl _____ >					

Mesurer au fluorimètre : l exc = 340 nm

l em = 450 nm

V. Mesure de la vitesse de réaction

* Dilution des échantillons :

- Soléaire (rat): 10µl au 1/20
- EDL (rat) : 10 µl au 1/20
- TA (rat) : 10 µl au 1/30
- Vaste externe humain : 5µl

* Ajouter dans l'ordre les réactifs suivants :

- 970 µl MR
- 10 µl de Triton X-100 10% au milieu réactionnel.
- 5 µl d'homogénat ou de suspension mitochondriale à la dilution appropriée + 5µL d'H₂O.

- attendre 6 minutes à température ambiante afin de permettre au Triton X-100 de solubiliser les membranes mitochondriales.

- déclencher la réaction en ajoutant 10 µl d'acétyl-CoA 5 mM (soit 50 nmoles d'acétyl-CoA par ml de milieu de réactionnel).

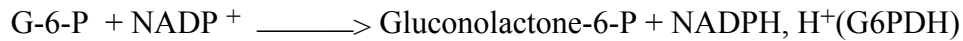
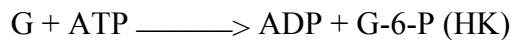
- attendre 7minutes à température ambiante (la réaction est plus stable et plus régulière)

- suivre la réaction au fluorimètre (1 exc = 340 nm et 1 em = 450 nm) pendant plusieurs minutes.

NB : Compter 1 à 2h pour préparer MR. 1h pour étalonner. 6 prélèvements par heure.

MESURE SPECTROFLUOROMETRIQUE : CREATINE PHOSPHOKINASE

I. Principe de la mesure



Abréviations : CrP, créatine phosphate; Cr, créatine ; G-6-P, glucose-6-phosphate ; CK, créatine phosphokinase ; HK, hexokinase ; G6PDH, glucose-6-phosphate déshydrogénase.

Vaste ext.humain : 1000 à 2000 $\mu\text{moles. min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ tissu sec

II. Réactifs

* Tris 1M pH=8.0

Peser 12.1 g de Tris Base (PM=121.1 g/mol). Compléter jusqu'à 90 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Ajuster à pH=8.0. Ajuster le volume final à 100 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée.

* CrP 0,833 M

Peser 1,363 g* de CrP (Roche 621 714; PM=327,2 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 5 ml avec H_2O . Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C .

* ADP 50 mM :

Peser 213,6 mg d'ADP (Sigma, A-2754, PM=427,2). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C .

* Glucose 100 mM :

Peser 180 mg de Glucose (PM=180,16 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C .

* NADP⁺ 5 mM

Peser 39,4 mg de NADP⁺ (Roche 128 031; PM=787,4 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C .

* ATP 2,5 mM :

Peser 15,13 mg d'ATP (Roche 519 979; PM=605.2 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C . Comme pour faire NADH,H⁺ (PFK), 15mg dans 1mL puis diluer au 1/10^{ème}.

* MgCl₂ 500 mM

Peser 1.017 g de MgCl₂ (PM de MgCl₂, 6H₂O = 203.3 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec ΔH₂O. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C.

* Dithiothreitol 250 mM :

Peser 385,5 mg de Dithiothreitol (Sigma D9163; PM=154,2 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec ΔH₂O. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C.

*Bovine Serum Albumine 10%

Peser 1 g de BSA (Sigma A-4503). Dissoudre dans un volume final de 10 ml avec ΔH₂O. Aliquoter sous 1 ml et conserver à -20°C.

* Hexokinase (Roche 1 426 362)

Yeast overproducer suspension. 450 U/mg, 1500 unités/ml

* Glucose-6- P Déshydrogénase (Roche 127 655)

Yeast suspension. 5 mg.prot/ml et 350 unités/mg soit 1750 U/ml

III. Préparation du milieu réactionnel

Les concentrations finales indiquées correspondent aux concentrations finales dans 1 ml dans le tube de mesure.

Solution stock	Volume à rajouter	Concentration finale dans le tube 1 ml
Tris 1M pH = 8	2,5 ml	50 mM
ADP 50 mM	1 ml	1 mM
Glucose 100 mM	1 ml	2 mM
NADP+ 5mM	1 ml	100 μM
MgCl ₂ 500 mM	1 ml	10 mM
DTT 250mM	1 ml	5 mM
BSA 10%	100 μl	0,02 %
HK 1500 U/ml	100 μl	3 unités/ml
G6PDH 1750 U/ml	10 μl	0,35 unités/ml

Ajuster le volume final à 48.5 ml avec ΔH₂O dans une éprouvette graduée.

IV. Etalonnage

* Plan de pipetage pour l'étalonnage

nmoles ATP	0	10	20	30	40	50
ATP 2,5 mM, μl	0	4	8	12	16	20

$\Delta\text{H}_2\text{O}$, μl	40	36	32	28	24	20
Milieu réactionnel, μl	←————— 960 μl —————→					

Faire le point bas de la calibration sur le milieu sans ATP (soit sans NADPH,H^+).

Faire le point haut de la calibration sur le milieu contenant 50 nmoles de ATP (soit 50 nmoles de NADPH,H^+). Attendre 5min.

V. Mesure de la vitesse de reaction

* Dilution des échantillons :

Vaste externe humain : 5 μl au 1/10

Soléaire (rat) : 10 μl au 1/100, EDL (rat) : 5 μl au 1/200

* Ajouter dans l'ordre les réactifs suivants :

- 960 μl MR contenant du NADH,H^+ + 5 μL d' H_2O

- 5 μl d'extrait à la dilution appropriée.

- déclencher la réaction en ajoutant 30 μl de CrP 0,833 M (soit 25 mM final)

- attendre 5 minutes à température ambiante

- suivre la réaction au fluorimètre (à partir de 30 unités) (l exc = 340 nm et l em = 450 nm) pendant plusieurs minutes.

MESURE SPECTROFLUOROMETRIQUE : LACTATE DESHYDROGENASE

I. Principe de la mesure



II. Réactifs

* Tris 1M pH = 7.6 (Sigma T-1503)

Peser 12.1 g de Tris Base (PM=121.1 g/mol). Compléter jusqu'à 90 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$. Ajuster à pH=8.0. Ajuster le volume final à 100 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée.

* EDTA 200 mM (Sigma EDS)

Peser 584.4 mg d'EDTA (PM = 292,2 g/mol). Compléter jusqu'à 10 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée. Ajuster éventuellement le pH autour de 7,4-7,5 pour obtenir une meilleure dissolution. Aliquoter sous 500 μl et conserver à -20°C .

* Pyruvate 100 mM (Sigma P-8574)

* NADH,H^+ 5 mM (Boehringer 107727)

Peser 7.1 mg NADH,H^+ (Roche 107 735; PM=709.4 g/mol). Dissoudre dans un volume final de 2 ml avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$.

III. Préparation du milieu réactionnel

Les concentrations finales indiquées correspondent aux concentrations finales dans 1 ml dans le tube de mesure.

Solution stock	Volume à rajouter
Tris 1 M pH = 7.6	2.5 mL
EDTA 200 mM	500 μL
NADH,H^+	500 μL

Ajuster le volume final à 49 mL avec $\Delta\text{H}_2\text{O}$ dans une éprouvette graduée.

NB : Préparer au moins 150mL de MR pour 36 prélèvements.

IV. Etalonnage

* Préparation du milieu d'étalonnage

Solution stock	Volume à rajouter
----------------	-------------------

Tris 1 M pH = 7.6	1 mL
EDTA 200 mM	200 μ L

Ajuster le volume final à 20mL avec Δ H₂O (dans un falcon).

On construit la courbe étalon avec des concentrations croissantes de NADH,H⁺ 1mM

* Plan de pipetage pour l'étalonnage

nmoles de NADH,H ⁺	0	10	20	30	40	50
NADH,H ⁺ 5mM, μ L	0	2	4	6	8	10
Δ H ₂ O	30	28	26	24	22	20
Milieu d'étalonnage, μ l	← 970 μ l →					

Mesurer au fluorimètre: 1 exc = 340 nm

1 em = 450 nm

Attendre 5min avant de faire la droite d'étalon.

V. Mesure de la vitesse de réaction

* Ajouter dans l'ordre les réactifs suivants :

- 980 μ L MR
- 10 μ L d'extrait protéique (muscle lyophilisé dans milieu d'extraction)
- Déclencher la réaction en ajoutant 10 μ L de 100mM pyruvate (1 μ M final)
- Attendre 5min
- Suivre la réaction au fluorimètre (1 exc = 340 nm et 1 em = 450 nm) pendant une dizaine de minutes.