



HAL
open science

Maintien de la fonction musculaire : Exercice en hémodialyse : rôles physiologiques de eIF3f

Laura Pavlin

► **To cite this version:**

Laura Pavlin. Maintien de la fonction musculaire : Exercice en hémodialyse : rôles physiologiques de eIF3f. Education. Université Montpellier, 2021. Français. NNT : 2021MONT4003 . tel-03346457

HAL Id: tel-03346457

<https://theses.hal.science/tel-03346457>

Submitted on 16 Sep 2021

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

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

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Sciences du Mouvement Humain

École Doctorale 463 Sciences du Mouvement Humain

Unité de recherche UMR866 Dynamique Musculaire et Métabolisme, INRAE

Maintien de la fonction musculaire

Exercice en hémodialyse

Rôles physiologiques de eIF3f

Présentée par Laura PAVLIN

Le 24 juin 2021

Sous la direction de Robin CANDAU
et Henri BERNARDI

Devant le jury composé de

Monsieur Romuald LEPEERS, Professeur des Universités, Université de Bourgogne

Monsieur Marc FRANCAUX, Professeur des Universités, Université Catholique de Louvain

Monsieur Julien GONDIN, Chargé de Recherche, Université Claude Bernard

Madame Elsa HEYMAN, Maître de Conférence - HDR, Université de Lille

Madame Laure PATRIER, Néphrologue, AIDER Santé

Monsieur Carlo REGGIANI, Professeur des Universités, Université de Padoue

Madame Cécile TURC-BARON, Néphrologue, AIDER Santé

Monsieur Henri BERNARDI, Chargé de Recherche, INRAE

Monsieur Robin CANDAU, Professeur des Universités, Université de Montpellier

Président du jury

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examinatrice

Examineur

Membre invité

Co-directeur de thèse

Directeur de thèse



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

REMERCIEMENTS

Je remercie Monsieur Marc Francaux et Monsieur Julien Gondin de m'avoir fait l'honneur de rapporter ce travail de thèse. J'adresse aussi toute ma reconnaissance à Madame Elsa Heyman, Madame Laure Patrier, Madame Cécile Turc-Baron, Monsieur Carlo Reggiani et Monsieur Romuald Lepers pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à celles et ceux qui ont permis à ce doctorat d'exister après bien des mésaventures. Tout d'abord à mes directeurs de thèse, Robin et Henri, pour m'avoir accordé leur confiance, mais aussi pour leur patience, leur disponibilité et leurs précieux conseils. Ces six années de vie commune m'ont énormément appris. Etre à cheval, cette fois entre le laboratoire et la clinique, m'a permis de m'épanouir autrement. Simplement mais très sincèrement, je vous dis merci.

Je tiens à remercier chaleureusement deux femmes sans qui rien n'aurait été possible : Anne Bonniou, directrice de la DMeM ; et Anne-Valérie Boulet, directrice de l'AIDER Santé. J'ai envers vous un profond respect, mais aussi beaucoup de considération et d'admiration. Merci de m'avoir accompagnée.

Je tiens aussi à adresser toute ma reconnaissance au Dr Cécile Turc-Baron et à Isabelle Ohresser pour leur aide précieuse, mais aussi pour leur accueil et leur humanité. Merci au Pr Jean-Paul Cristol, au Dr Annie Rodriguez et au Dr Laure Patrier : travailler avec vous a tout simplement été un plaisir. Florence, merci de t'être investie à mes côtés et d'avoir été là chaque fois que j'en ai eu besoin.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les intervenants de la DMeM et de l'AIDER Santé ainsi qu'à tous les patients, et s'il serait trop long de tous les citer, ils ne méritent pas moins ma profonde gratitude pour leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils. Merci d'avoir accepté de travailler avec moi.

La contribution de chacun a été significative dans l'aboutissement de ce travail de thèse. Je me permettrai cependant de remercier de façon nominative certains contributeurs, qui, d'une façon plus personnelle, m'ont permis de mener à bien ce doctorat.

Anna « frère », Chachou, merci pour ces heures passées à parler science, à relire mes travaux et à m'écouter répéter mes oraux. Vous avez toujours su répondre présentes quand j'en avais besoin. Caca, Chloch', Béran, SL, Anapïs et la Team Whynehn en général, merci pour tous ces moments à pied comme à cheval, tous ces commérages et ces moments de partage, si importants pour mon équilibre.

Merci Arnaud, véritable relique vivante de la DMeM, à la fois maître à penser et professionnel de l'anecdote, à l'humour autant douteux qu'incompris, je garderai de nos conversations spirituelles des souvenirs impérissables.

Mon p'tit Léo, musicien néophyte dont la schizophrénie n'est révélée qu'après un certain seuil d'alcoolémie, tu as su demeurer le maître de la beauferie et une véritable source d'inspiration pour une novice comme moi. Merci pour ces fous rires.

Rémi, cisgenre engagé dans le débat sociétal tombé dans le pastis quand il était encore petit, merci pour ta sincérité, ta tendresse et ton humour. Sans cette complicité et ces instants de partage si singuliers, la saveur de ces années de thèse n'aurait pas été la même.

Coco, produit brut des campagnes profondes de l'Auvergne, exclusivement élevé à la charcuterie et au fromage, incarnant la joie de vivre et la chaleur humaine, merci pour ton authenticité et ta bienveillance à mon égard. Tu resteras mon asocial préféré.

Max, semi-professionnel de la vanne, contestataire affirmé et véritable paradoxe vivant, approximativement situé entre Jack Kerouac et Simone Veil, merci d'avoir effacé tout ce que le jugement peut amener de mauvais et d'avoir mis en avant tout ce que l'anticonformisme a de bon. Surtout ne cesse jamais de me surprendre.

Papa, Maman, merci d'avoir toujours cru en moi. Je crois qu'en termes de soutien parental, on peut difficilement faire mieux que vous. Oliv, mon frère adoré, même si j'attends toujours ta venue sur Montpellier, merci de n'avoir jamais douté. Toi et Marlène m'avez fait le plus beau des cadeaux. Luna, j'ai hâte que tu regrettes de savoir lire quand tata te donnera ce manuscrit.

Merci à toute ma famille, celles et ceux qui sont là, de près comme de loin, et celles et ceux qui sont très loin. Mémé Guite, Mémère, Bubus, tonton Yves, Sonia, vous ferez toujours partie de moi. J'aurais bien évidemment aimé vous présenter ce travail, et vous perdre au cours de cette thèse m'a profondément attristée, mais sachez que cela n'a fait que renforcer votre présence à mes côtés.

Pour clore ce préambule, je préciserai un dernier point. Dans une société où tout doit rentrer dans des cases, j'assume avoir renié, sans doute pour la première fois de ma vie, une partie de mon côté scolaire qui prenait le pas sur ma curiosité et ma créativité. En revendiquant les pensées du philosophe Søren Kierkegaard, « *la vie n'est pas un problème à résoudre mais une réalité qui doit être vécue* », je crois avoir fait personnellement bon usage du temps qui m'a été accordé.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	1
AVANT-PROPOS.....	4
CHAPITRE I : PLASTICITE DU TISSU MUSCULAIRE STRIE SQUELETTIQUE	6
1. Anatomie fonctionnelle du muscle strié squelettique	6
1.1. <i>Structure du muscle strié squelettique</i>	6
1.2. <i>Le muscle strié squelettique : moteur du mouvement</i>	9
1.3. <i>Autres fonctions du système musculaire squelettique</i>	15
2. Réponses à l'exercice chronique	16
2.1. <i>Adaptations à l'entraînement en résistance</i>	16
2.2. <i>Adaptations à l'entraînement en endurance.....</i>	21
2.3. <i>Adaptations à l'entraînement combiné.....</i>	27
2.4. <i>Adaptations à l'entraînement en excentrique.....</i>	30
3. Déconditionnement musculaire	36
3.1. <i>Vieillesse.....</i>	36
3.2. <i>Sédentarité.....</i>	41
3.3. <i>Maladies chroniques</i>	45
RESUME DU CHAPITRE I	49
CHAPITRE II : DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE DU PATIENT HEMODIALYSE.....	50
1. L'insuffisance rénale chronique terminale.....	50
1.1. <i>Rôles fonctionnels des reins dans l'organisme</i>	50
1.2. <i>Physiopathologie de l'insuffisance rénale chronique</i>	51
1.3. <i>Causes du déconditionnement musculaire du patient hémodialysé</i>	53
1.4. <i>Physiologie du remodelage musculaire du patient hémodialysé</i>	57
2. Dépistage du déconditionnement musculaire du patient hémodialysé.....	61
2.1. <i>Evaluation de la masse musculaire</i>	61
2.2. <i>Evaluation de la force musculaire</i>	62
2.3. <i>Evaluation des capacités fonctionnelles.....</i>	63
2.4. <i>Evaluation du niveau d'activité physique et de la qualité de vie.....</i>	67
3. Prise en charge du déconditionnement musculaire chez le patient hémodialysé	69
3.1. <i>Activité physique et insuffisance rénale chronique terminale.....</i>	71
3.2. <i>Modalités d'exercice per dialytique.....</i>	73
3.3. <i>Programmes de réhabilitation per dialytique</i>	75

4. Perspectives de réhabilitation par l'exercice excentrique	77
4.1. <i>Intérêts majeurs</i>	78
4.2. <i>Gains fonctionnels</i>	79
4.3. <i>Limites chez les populations fragiles</i>	80
4.4. <i>Applications cliniques</i>	81
RESUME DU CHAPITRE II	83
CHAPITRE III : EXERCICE EN HEMODIALYSE	84
Etude #1 : Réhabilitation combinée du patient hémodialysé	84
<i>Rationnel scientifique et hypothèses</i>	84
<i>Implication personnelle</i>	85
<i>Manuscrit</i>	85
<i>Synthèse</i>	100
Etude #2 : Faisabilité de l'exercice excentrique en position alitée	103
<i>Rationnel scientifique et hypothèses</i>	103
<i>Implication personnelle</i>	104
<i>Manuscrit</i>	104
<i>Synthèse</i>	119
RESUME DU CHAPITRE III	123
CHAPITRE IV : MECANISMES DE REGULATION DE L'HOMEOSTASIE MUSCULAIRE	124
1. Croissance musculaire et hypertrophie	125
1.1. <i>Activation de la synthèse protéique</i>	125
1.2. <i>Initiation de la synthèse protéique</i>	128
1.3. <i>Biogenèse des ribosomes</i>	130
1.4. <i>Approches thérapeutiques d'activation de la synthèse protéique</i>	131
2. Atrophie musculaire	134
2.1. <i>Système ubiquitine-protéasome</i>	134
2.2. <i>Autophagie</i>	136
2.3. <i>Voies cellulaires régulant l'atrophie</i>	138
2.4. <i>Approches thérapeutiques d'inhibition de la dégradation protéique</i>	142
3. Rôle de eIF3f dans la balance protéique musculaire	145
3.1. <i>Rôles de eIF3f in vitro</i>	146
3.2. <i>Modèle de souris invalidées</i>	149
3.3. <i>Modèle de souris transgéniques</i>	150
RESUME DU CHAPITRE IV	152
CHAPITRE V : ROLES PHYSIOLOGIQUES DE EIF3F	153

Etude #3 : Effets physiologiques de la déplétion partielle en eIF3f	153
<i>Rationnel scientifique et hypothèses</i>	153
<i>Implication personnelle</i>	154
<i>Publication.....</i>	155
<i>Synthèse</i>	180
Etude #4 : Effets fonctionnels et métaboliques de la déplétion partielle en eIF3f	183
<i>Rationnel scientifique et hypothèses.....</i>	183
<i>Implication personnelle</i>	184
<i>Résultats.....</i>	185
<i>Synthèse</i>	193
Etude #5 : Effets physiologiques de la surexpression de eIF3f	198
<i>Rationnel scientifique et hypothèses.....</i>	198
<i>Implication personnelle</i>	199
<i>Résultats.....</i>	199
<i>Synthèse</i>	207
RESUME DU CHAPITRE V.....	210
SYNTHESE DES COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS.....	211
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	214
CONCLUSION.....	225
MATERIEL ET TECHNIQUES.....	227
Fiche méthodologique #1 : Demande auprès du Comité de Protection des Personnes.....	228
<i>Obtention d'un numéro d'enregistrement</i>	228
<i>Constitution du dossier de demande.....</i>	228
Fiche méthodologique #2 : Evaluation fonctionnelle du patient dialysé	229
<i>Short Physical Performance Battery.....</i>	229
<i>Appui unipodal</i>	232
<i>Force de préhension</i>	232
<i>Force maximale isométrique d'extension du genou.....</i>	233
Fiche méthodologique #3 : Réhabilitation combinée du patient dialysé.....	234
<i>Mise en place du pédalier Lemco BedBike.....</i>	234
<i>Exercices de renforcement musculaire</i>	235
<i>Programme de réhabilitation continu</i>	236
<i>Programme de réhabilitation discontinu.....</i>	237
Fiche méthodologique #4 : Montage d'un ergomètre excentrique adapté au lit.....	239
<i>Assemblage initial du pédalier</i>	239

<i>Développement de l'ergomètre.....</i>	<i>240</i>
Fiche méthodologique #5 : Performance concentrique sur bicyclette instrumentée	241
<i>Mise en route du système.....</i>	<i>241</i>
<i>Démarrage du logiciel</i>	<i>241</i>
<i>Epreuve force-vitesse.....</i>	<i>241</i>
<i>Enregistrement des données</i>	<i>243</i>
Fiche méthodologique #6 : Demande de protocoles d'expérimentation animale.....	244
<i>Formulaire APAFIS</i>	<i>244</i>
<i>Constitution du dossier de demande</i>	<i>244</i>
Fiche méthodologique #7 : Immobilisation de la patte arrière de la souris	245
<i>Préparation du matériel</i>	<i>245</i>
<i>Immobilisation unilatérale de la patte arrière.....</i>	<i>245</i>
Fiche méthodologique #8 : Evaluation des capacités fonctionnelles des souris.....	246
<i>Activité spontanée.....</i>	<i>246</i>
<i>Vitesse maximale aérobie (VMA)</i>	<i>246</i>
<i>Test d'endurance</i>	<i>247</i>
<i>Force de préhension</i>	<i>248</i>
Fiche méthodologique #9 : Evaluation du métabolisme des souris.....	249
<i>Cages métaboliques</i>	<i>249</i>
<i>Test de tolérance au glucose (OGTT).....</i>	<i>249</i>
<i>Test de tolérance à l'insuline (ITT).....</i>	<i>250</i>
<i>Mesure de l'activité de la citrate synthase.....</i>	<i>251</i>
Fiche méthodologique #10 : Mesure de la contractilité ex-vivo.....	253
<i>Préparation des solutions</i>	<i>253</i>
<i>Montage de l'appareil et démarrage du système</i>	<i>253</i>
<i>Dissection et montage du muscle.....</i>	<i>254</i>
<i>Propriétés contractiles.....</i>	<i>255</i>
Liste des amorces et anticorps utilisés	259
REFERENCES.....	261

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 :** Structure macroscopique du muscle strié squelettique
- Figure 2 :** Structure microscopique d'une fibre musculaire
- Figure 3 :** Structure de l'appareil contractile
- Figure 4 :** Transmission du potentiel d'action à la cellule musculaire
- Figure 5 :** Mécanismes de la contraction musculaire
- Figure 6 :** Marquage histologique de l'activité ATPasique et détermination de la typologie des fibres
- Figure 7 :** Types de contraction musculaire
- Figure 8 :** Relation tension-longueur du sarcomère
- Figure 9 :** Relation force-vitesse du muscle strié squelettique en fonction du type de contraction
- Figure 10 :** Imagerie par résonance magnétique (IRM) du vaste médian oblique (VMO)
- Figure 11 :** Rôle des cellules satellites dans l'hypertrophie induite par l'entraînement en résistance
- Figure 12 :** Système ATP – Phosphocréatine
- Figure 13 :** Adaptations du tissu musculaire à l'entraînement en résistance
- Figure 14 :** Augmentation de la densité capillaire en réponse à l'entraînement en endurance
- Figure 15 :** Augmentation de la taille et de la densité mitochondriale en réponse à l'entraînement en endurance
- Figure 16 :** Adaptations du tissu musculaire à l'entraînement en endurance
- Figure 17 :** Effet d'interférence sur le développement de force lors de l'entraînement combinant exercices d'endurance et de résistance
- Figure 18 :** Dispositif expérimental pour estimer la dépense énergétique associée au travail excentrique
- Figure 19 :** Modèle mécanique du muscle strié squelettique
- Figure 20 :** Dommages musculaires liés à l'exercice excentrique

Figure 21 : Schéma des adaptations structurelles à l'exercice concentrique et excentrique

Figure 22 : Evaluation de la sarcopénie par DXA

Figure 23 : Sarcopénie vue par imagerie à résonance magnétique (IRM)

Figure 24 : Cercle vicieux du déconditionnement

Figure 25 : Répartition en pourcentage des causes de décès en France pour l'année 2016 selon l'OMS

Figure 26 : Analyse de survie de Kaplan-Meier de patients malades chroniques en fonction de la force de préhension

Figure 27 : Fonctions des reins dans l'organisme

Figure 28 : Evolution de l'insuffisance rénale chronique d'après la Haute Autorité de Santé, 2012

Figure 29 : Epuration sanguine par hémodialyse

Figure 30 : Dénutrition et phénomène de "Protein Energy Wasting" chez le patient dialysé

Figure 31 : Immobilité pendant le traitement par hémodialyse

Figure 32 : Ultrastructure du vaste latéral d'un sujet sain et d'un patient hémodialysé

Figure 33 : Imagerie par résonance magnétique de la cuisse d'une femme de 72 ans en bonne santé et d'une patiente de 70 ans traitée par hémodialyse

Figure 34 : Valeurs de force de préhension (en kg) de référence en fonction de l'âge et du genre

Figure 35 : Niveau de la consommation maximale en oxygène (VO_{2max}) chez les patients hémodialysés en comparaison à des personnes saines sédentaires

Figure 36 : Evolution avec intervalles de confiance (95%) du score au Short Physical Performance Battery en fonction du niveau de départ

Figure 37 : Pourcentage d'installations de dialyse offrant un programme d'exercice par pays

Figure 38 : Progression de la charge de travail excentrique en réhabilitation.

Figure 39 : Evolution de la quantité moyenne de travail négatif et des douleurs estimées par échelle visuelle analogique au cours du programme de reconditionnement excentrique « RENEW »

Figure 40 : Balance protéique musculaire

Figure 41 : Déroulement de la synthèse protéique dans la cellule musculaire

Figure 42 : Activation de l'axe PI3K/Akt/MTORC1 et de la synthèse protéique

Figure 43 : Activation de MTORC1 par la voie des MAPK indépendante de l'axe PI3K/Akt

Figure 44 : Activation des substrats de MTORC1 et rôle central de S6K1 dans la traduction protéique

Figure 45 : MTORC1 stimule la biogenèse des ribosomes

Figure 46 : Activation de la synthèse protéique par une approche nutritionnelle

Figure 47 : Dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome

Figure 48 : Dégradation de constituants cellulaires par macroautophagie

Figure 49 : Activation des facteurs de transcription FoxO dans la dégradation protéique

Figure 50 : Principales voies de signalisation cellulaire menant à l'atrophie musculaire

Figure 51 : Structure du facteur d'initiation de la traduction eIF3f

Figure 52 : Surexpression de eIF3f et hypertrophie des myotubes par rapport à une situation contrôle

Figure 53 : Rôle de eIF3f dans la balance protéique musculaire

Figure 54 : Génération de souris invalidées pour le gène eIF3f

Figure 55 : Cartographie du transgène de eIF3f

Figure 56 : Expression de eIF3f et de sa forme mutante eIF3f K5-10R chez les souris sauvages (+/+) et double transgéniques (Tg/Tg)

AVANT-PROPOS

Cette thèse a pu voir le jour grâce à un cofinancement inédit. Mon stage de deuxième année de Master à l'Université de Montpellier m'avait déjà permis d'intégrer le laboratoire DMEM et donné l'envie de poursuivre en thèse. Face à la difficulté d'obtenir un financement plein, l'AIDER Santé, réseau de cliniques spécialisé dans la dialyse, et le département PHASE de l'INRAE ont chacun assuré le demi-financement de ce doctorat, donnant naissance à la suite de mon parcours académique. La chance de continuer dans la recherche m'a alors été donnée, avec l'opportunité d'étudier les mécanismes qui concourent au maintien de la masse musculaire sous un aspect fondamental en laboratoire jusqu'à des applications cliniques. Pour la petite anecdote, ce demi-financement par l'AIDER Santé est arrivé comme un signe du destin, dans la mesure où lors d'un projet de première année de Master, c'est tout naturellement que j'avais choisi la problématique du déconditionnement du patient dialysé...

Ce travail de thèse est donc le fruit d'une collaboration originale mêlant recherche clinique et fondamentale. Si l'on oppose souvent ces deux mondes, ils ont en commun un point essentiel : la recherche scientifique pour l'amélioration de la santé. Ainsi, la recherche clinique académique a pour objectif de définir et de valider les meilleures stratégies possibles de diagnostic et de traitement des pathologies. La recherche fondamentale vise à comprendre les mécanismes qui gouvernent la régulation des fonctions de l'organisme sain et pathologique. Approfondir les connaissances sur le fonctionnement des cellules, des organes et connaître leurs dialogues mutuels est indispensable pour développer de nouvelles approches diagnostiques et des traitements innovants. La recherche clinique optimise autant que possible les soins à apporter aux patients pendant que la recherche fondamentale élargit les connaissances en ayant vocation à faire progresser la science et la médecine.

Afin d'établir la coopération pleine, entière et surtout réciproque entre chercheurs et cliniciens, le flux des connaissances se doit d'être bidirectionnel : du patient vers le laboratoire et du laboratoire vers le patient. Cette thèse est ainsi à mi-chemin, un pied dans le laboratoire de l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) rattaché à l'Université de Montpellier, et l'autre aux côtés du patient au sein du réseau Association Installations à Domicile Epurations Rénale (AIDER Santé). Le laboratoire de Dynamique Musculaire et Métabolisme (DMEM), unité mixte de recherche de l'INRAE et de l'Université de Montpellier, aspire à la compréhension des mécanismes tissulaires, cellulaires et moléculaires qui permettent aux muscles squelettiques de se développer correctement et de s'adapter à leur environnement. L'AIDER Santé est un établissement de référence pour le traitement de suppléance de l'Insuffisance Rénale Chronique par dialyse, comptant 23 cliniques en Occitanie. Depuis près de 50 ans, l'AIDER Santé assure la détection de la maladie rénale, la mise en place d'un traitement de dialyse, la prise en charge des besoins des patients et l'amélioration de leur qualité de vie.

D'un côté, les travaux du laboratoire laissent à penser que des anomalies dans l'adaptation du tissu musculaire aux changements de son environnement peuvent moduler l'homéostasie du corps et, plus

largement, l'état de santé. D'un autre côté, l'importance du maintien du tissu musculaire chez les patients dialysés ne cesse de grandir et nécessite d'être prise en considération dans le parcours de soin de la maladie rénale chronique. La volonté du laboratoire de partager ses connaissances sur le maintien de la fonction musculaire en s'inscrivant dans une démarche de santé publique, et celle de l'AIDER Santé d'améliorer la qualité de vie des patients au travers de la prise en charge de leur fonction physique ont permis la naissance de ce partenariat. Le transfert des connaissances entre le laboratoire et le patient participe ainsi au maintien d'un lien durable entre recherche fondamentale et clinique, dans le but d'améliorer la fonction musculaire et la santé dans des environnements changeants.

Dans ses traités établis au début des années 160 après J-C, Galien, disciple d'Hippocrate, préconisait la « gymnastique » dans le champ de la médecine préventive et curative, alors même que la physiologie animale attendra le XIX^{ème} siècle et Claude Bernard pour connaître sa véritable révolution. Ce n'est qu'après la Seconde Guerre Mondiale que la promotion du sport pour la santé prend son essor en Norvège, tandis qu'un siècle plus tôt Arthur Schopenhauer (1788 – 1860), artiste, écrivain et philosophe ; écrivait déjà : « *Point de santé si l'on ne se donne tous les jours suffisamment de mouvement* ». L'importance du tissu musculaire pour la santé n'a ainsi été reconnue que très tard. Pourtant, fort de ses 660 muscles, l'organisme ne saurait vivre sans se mouvoir. Plus que le mouvement, le muscle assure de nombreuses fonctions dans l'organisme et participe activement au maintien de l'homéostasie. Ainsi, la sous- ou la sur-utilisation du tissu musculaire affecte la capacité de l'organisme entier à maintenir l'équilibre de son milieu intérieur.

Dans un premier temps, les notions physiologiques fondamentales à la compréhension des travaux de recherche seront présentées, avec un accent particulier sur les éléments participant à la fonctionnalité du tissu musculaire. La régulation de la fonction du muscle strié squelettique et sa plasticité en réponse aux stimuli de l'environnement seront détaillées. La problématique du maintien de la fonction musculaire dans un contexte pathologique sera alors posée, et l'intérêt de sa prise en charge chez le patient dialysé sera analysé. Après avoir passé en revue les pratiques cliniques actuelles en dialyse et leurs limites, les perspectives de prise en charge de la fonction physique seront présentées. Les travaux de recherche clinique réalisés lors de cette thèse seront alors décrits.

La suite de cette thèse s'intéressera aux acteurs cellulaires et moléculaires gouvernant le maintien de la fonction musculaire. Les principaux mécanismes régulant l'homéostasie du muscle strié squelettique seront présentés. Une fois la description des voies de signalisation cellulaires majeures de la synthèse et de la dégradation protéique établie, un intérêt particulier sera porté à une protéine possédant un rôle clé dans l'homéostasie musculaire. Les publications orales et écrites réalisées au cours de cette thèse de doctorat en lien avec ces travaux de recherche fondamentale seront alors présentées. Les rôles physiologiques du facteur d'initiation de la traduction eIF3f seront étudiés ainsi que les perspectives d'application thérapeutique.

Les différents résultats obtenus en recherche fondamentale et clinique seront discutés. Enfin, la synthèse des réponses apportées par ce travail de thèse permettra de mettre en lumière les perspectives futures de cette thématique du maintien de la fonction musculaire.

CHAPITRE I : PLASTICITE DU TISSU MUSCULAIRE STRIE SQUELETTIQUE

1. Anatomie fonctionnelle du muscle strié squelettique

Le corps humain se compose d'environ 660 muscles striés squelettiques qui possèdent la capacité de se contracter et se relaxer sous l'impulsion d'une commande motrice volontaire. Ils s'insèrent sur le squelette par les tendons, permettant la mise en mouvement des différents segments du corps humain. Le muscle strié squelettique tire sa capacité contractile de sa structure complexe.

1.1. Structure du muscle strié squelettique

a. *Structure macroscopique*

Le muscle est recouvert dans sa totalité d'un tissu conjonctif épais, l'épimysium (Figure 1). Sous cette enveloppe protectrice, le muscle est constitué d'un ensemble de fibres musculaires regroupées en faisceaux par un autre tissu conjonctif, le péri-mysium. Les fibres musculaires sont autant de cellules musculaires, ou myocytes, entourées d'une dernière couche de tissu conjonctif, l'endomysium. Chaque fibre contient non seulement la machinerie contractile nécessaire au développement de la force, mais aussi l'ensemble des organites nécessaires à la vie cellulaire. Un réseau de capillaires sanguins, situé à la périphérie des fibres, permet d'acheminer les nutriments et d'éliminer les produits du métabolisme.

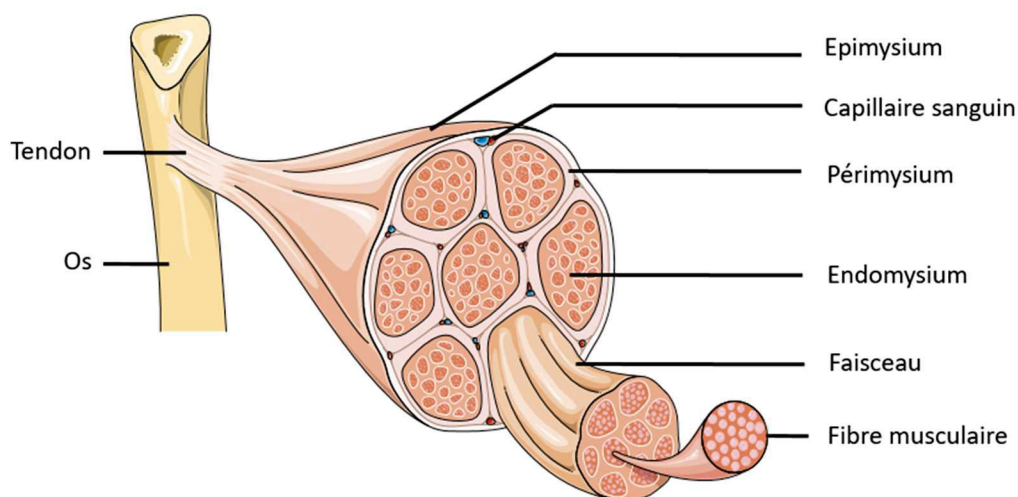


Figure 1 : Structure macroscopique du muscle strié squelettique

b. Structure microscopique

Ces fibres, d'un diamètre allant de 10 à 100 μm , sont entourées d'une membrane plasmique appelée plasmalemm. Avec la lame basale, le plasmalemm forme une unité plus large, le sarcolemme (Figure 2). Les cellules souches musculaires ou cellules satellites sont situées sous la lame basale, en périphérie des myocytes. La fibre musculaire se compose d'un nombre important de myofibrilles séparées par une substance gélatineuse, le sarcoplasme, équivalent au cytoplasme des cellules mononuclées. Le sarcolemme s'étend à l'intérieur du sarcoplasme au travers d'un réseau de tubules transverses (système T) permettant la communication et le transfert de substances ou de messagers à travers les myocytes. Un autre réseau composé de tubules, appelé réticulum sarcoplasmique, traverse la cellule musculaire de façon longitudinale. Ces cavités membranaires entourent les myofibrilles et permettent le stockage des ions calcium au plus près de la machinerie contractile. A proximité du réticulum sarcoplasmique se trouvent les citernes terminales dont le rôle est de pomper les ions calciques libérés. Les mitochondries sont disposées le long des myofibrilles et fournissent l'énergie nécessaire à la contraction musculaire.

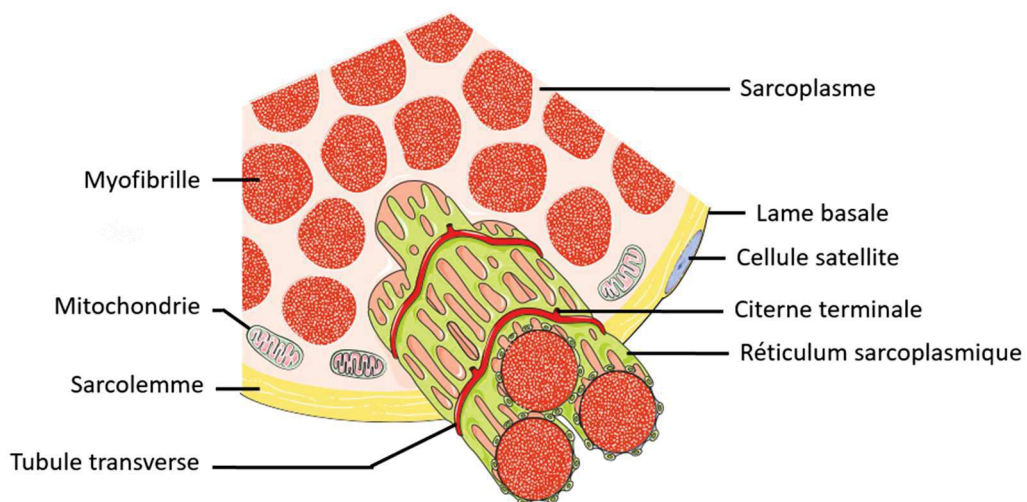


Figure 2 : Structure microscopique d'une fibre musculaire

c. Système contractile

Les myofibrilles qui composent la fibre sont organisées parallèlement les unes aux autres (Figure 3). Chaque myofibrille est structurée par des unités contractiles placées en série : les sarcomères. Deux principaux types de myofilaments, les filaments fins d'actine ($\sim 7\text{nm}$) et les filaments épais de myosine (Myosin Heavy Chain, MyHC, $\sim 15\text{nm}$) assurent la mobilité du tissu musculaire. Accolés entre eux au

niveau des stries Z, les sarcomères comprennent une bande I (isotrope), contenant principalement de l'actine ; une bande A (anisotrope) où s'enchevêtrent les deux myofilaments, et une zone H qui ne contient pas d'actine.

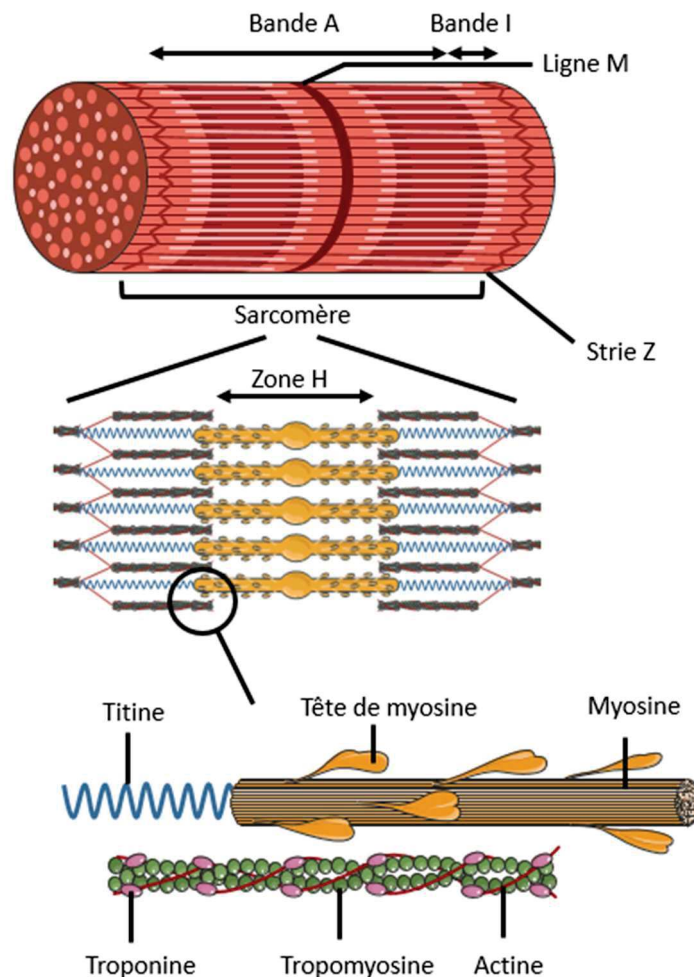


Figure 3: Structure de l'appareil contractile

La ligne M, située au milieu de la zone H, assure la stabilisation de la structure. A l'intérieur de chaque strie Z se trouvent les extrémités des filaments fins de deux sarcomères contigus. Le filament fin se compose à la fois d'actine, de tropomyosine et de troponine. La tropomyosine et la troponine contribuent à la transduction du signal d'activation de la machinerie contractile véhiculé par les ions calcium. La titine, également appelée connectine, assure entre autres le lien entre les filaments épais de myosine et la strie Z dans chaque demi-sarcomère et ainsi l'essentiel de la raideur passive du sarcomère lui permettant de résister à l'étirement.

1.2. Le muscle strié squelettique : moteur du mouvement

La principale fonction du tissu musculaire est de permettre la stabilisation des segments du corps humain lors du maintien de la posture et la mise en mouvement lors d'un exercice physique. Alors que le tonus musculaire est de type réflexe, les mouvements volontaires sont sous le contrôle du système nerveux somatique. Les motoneurones innervent les fibres musculaires jusqu'aux jonctions neuromusculaires et transmettent l'influx nerveux de la commande motrice volontaire (Figure 4).

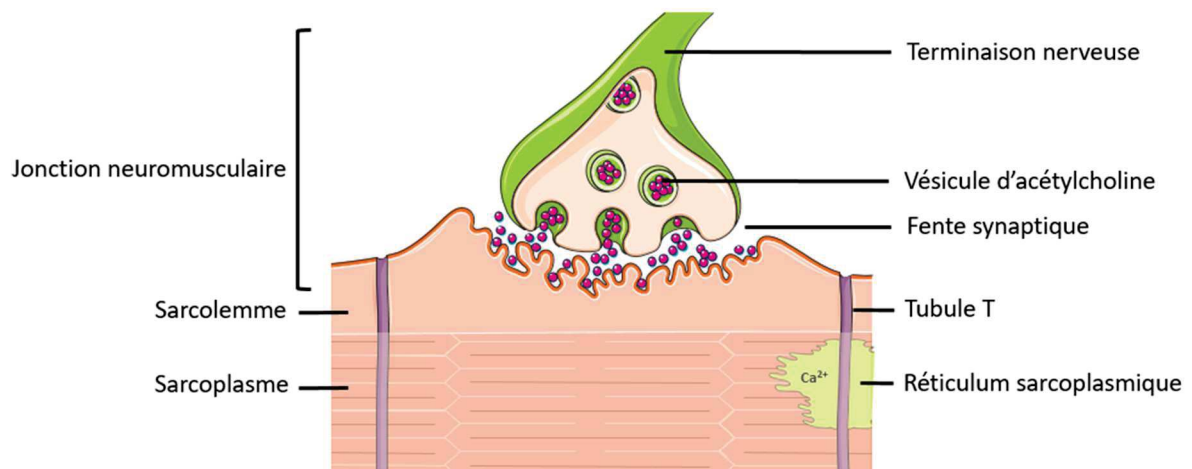


Figure 4 : Transmission du potentiel d'action à la cellule musculaire

La génération d'un potentiel d'action au niveau des plaques motrices entraîne la dépolarisation de la membrane de la cellule nerveuse et l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants présents. L'influx de calcium (Ca^{2+}) dans la cellule nerveuse déclenche la fusion des vésicules d'acétylcholine avec la membrane et la libération du neurotransmetteur dans la fente synaptique. L'acétylcholine se lie à des récepteurs canaux spécifiques, induisant un changement de la conformation du récepteur puis l'ouverture du canal. Un flux d'ions sodium (Na^{+}) dans la fibre musculaire produit une dépolarisation de la membrane, qui, lorsqu'elle atteint une valeur seuil, induit l'ouverture de canaux sodiques, générant ainsi un potentiel d'action. Ce potentiel d'action se déplace alors de proche en proche, jusqu'aux tubules T qui, en se dépolarisant à leur tour, induisent une libération d'ions calcium du réticulum sarcoplasmique vers le sarcoplasme.

a. Mécanisme de la contraction musculaire

Le raccourcissement des sarcomères est permis grâce aux myofilaments d'actine et de myosine qui glissent les uns sur les autres. Cette « théorie des filaments glissants » implique la formation de ponts actine-myosine par l'attachement des têtes de myosine sur le filament d'actine¹⁷⁹. Les ions calcium (Ca^{2+}) libérés par le réticulum sarcoplasmique se fixent sur la troponine, induisant un changement de conformation de la troponine et de la tropomyosine et permettant ainsi la libération des sites de fixations de la myosine à l'actine. Le site de liaison spécifique présent sur la tête de la molécule de myosine fixe l'adénosine triphosphate ou ATP (Figure 5). La myosine est alors dans un état de basse énergie chimique. La tête de myosine possède une enzyme, l'ATPase, qui catalyse la dégradation de l'ATP. L'hydrolyse de l'ATP en ADP (Adénosine diphosphate) et en phosphate inorganique (Pi) permet à la tête de myosine de passer en état de haute énergie chimique et de changer de conformation spatiale. La tête de myosine peut alors se lier au site actif du filament d'actine. La formation des ponts d'union induit alors la libération de l'ADP et du phosphate inorganique, générant l'énergie nécessaire à la bascule de la tête de myosine.

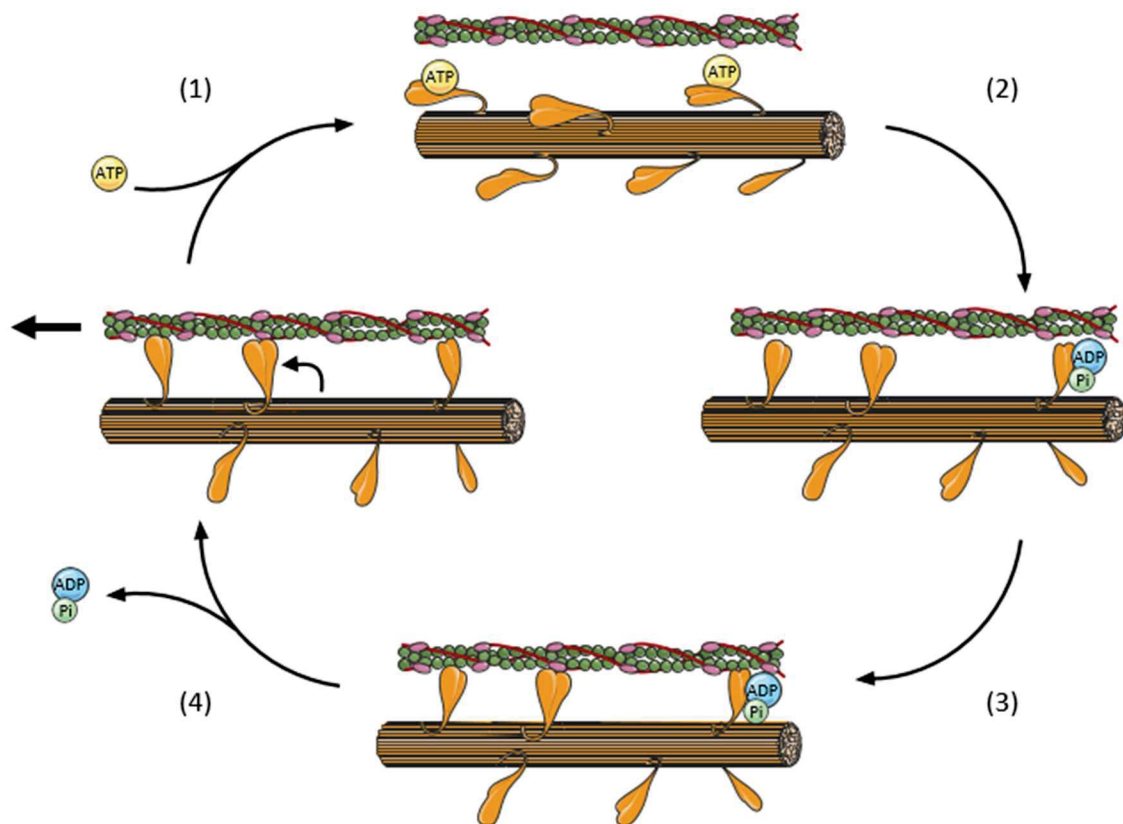


Figure 5 : Mécanismes de la contraction musculaire. (1) La concentration intracellulaire en ATP et en Ca^{2+} permet la fixation de l'ATP et le détachement des têtes de myosine. (2) L'ATPase hydrolyse l'ATP en ADP + Pi et les têtes de myosine pivotent. (3) Les têtes de myosine se lient aux sites actifs de l'actine. (4) L'énergie libérée lors du détachement du Pi et de l'ADP entraîne la bascule des têtes et le déplacement de l'actine

Le filament de myosine rattaché à l'actine exerce une force de l'ordre de 5 pico Newtons par tête de myosine. A faible charge, la bascule des têtes de myosine permet un déplacement d'environ 5 nanomètres, rapprochant les stries Z d'un même sarcomère et provoquant le raccourcissement de toute l'unité contractile. La dissociation des ponts actine-myosine induite par la fixation de l'ATP et le retour des têtes de myosine dans leur position initiale lors de l'hydrolyse de l'ATP permet ensuite l'attachement de la myosine sur un autre site actif de l'actine. La formation successive de ponts et la force générée par chaque bascule des têtes de myosine permettent le glissement continu des myofilaments les uns sur les autres, rapprochant l'actine du centre du sarcomère jusqu'à la disparition complète de la zone H où la longueur du sarcomère est minimale. La relaxation est permise lorsque le calcium intracellulaire est repompé par les citernes terminales, abaissant la concentration en Ca^{2+} dans le cytoplasme et masquant de nouveau les sites de liaison de la myosine sur le filament d'actine.

b. Apport en ATP

L'apport en ATP peut être assuré par deux grandes voies métaboliques en fonction de la disponibilité en oxygène : la fermentation ou l'oxydation des substrats. Le métabolisme anaérobie comprend la synthèse d'ATP par dégradation de la phosphocréatine et par glycolyse. La voie oxydative du métabolisme est assurée par les mitochondries au travers du cycle de Krebs permettant d'oxyder les groupes acétyle, issus de la dégradation des glucides, des graisses et des protéines. Cette dégradation génère de l'énergie sous forme d'électrons à haut potentiel de transfert et d'une molécule de GTP (Guanosine triphosphate) ou d'ATP. Ces électrons peuvent ensuite circuler à travers la chaîne respiratoire pour permettre à leur tour la formation de molécules d'ATP supplémentaires par le mécanisme de la phosphorylation oxydative.

c. Types de fibre musculaire

La myosine se présente sous trois principales isoformes caractérisées par leur activité ATPasique qui permet de catégoriser les fibres musculaires (Figure 6)³⁸³. Les fibres musculaires des mammifères présentent ainsi des propriétés différentes qui les distinguent en deux catégories : les fibres lentes et les fibres rapides. Chaque muscle contient des proportions différentes de chaque type de fibres qui déterminent sa capacité à produire de la force et à résister à la fatigue.

Les fibres lentes, souvent de petit calibre, sont riches en myoglobine et apparaissent de couleur rouge. Aussi appelées fibres de type I ou slow-twitch, les fibres lentes sont incapables de se contracter

rapidement. Ces fibres présentent une forme lente de myosine ATPase et un réticulum sarcoplasmique de faible dimension mais sont riches en mitochondries et présentent aussi une densité capillaire élevée. Ces propriétés structurelles ne permettent pas de développer de hautes vitesses de raccourcissement mais assurent une très bonne économie dans le maintien d'une posture ou le mouvement lent, et donc une grande résistance à la fatigue. Ainsi, les fibres lentes présentent généralement des aptitudes aérobies importantes : pour assurer la production d'ATP, ces fibres utilisent un métabolisme oxydant les substrats énergétiques en présence d'oxygène. Cette faculté permet aux fibres lentes d'assurer un apport énergétique continu lors d'activités peu intenses mais de longue durée.

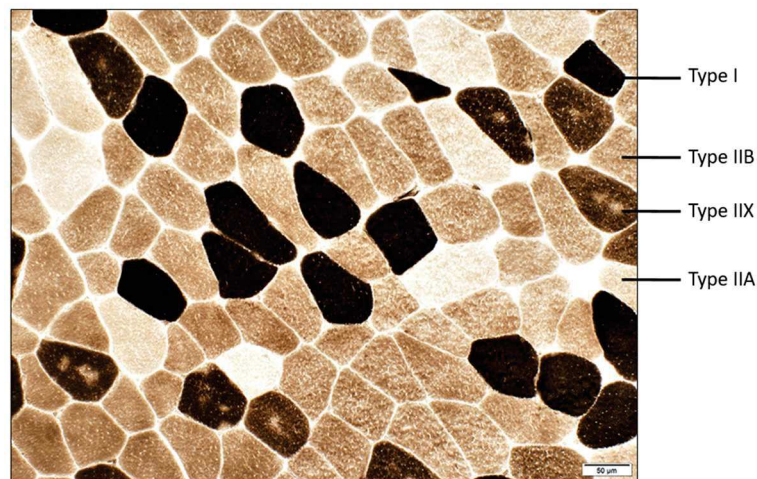


Figure 6 : Marquage histologique de l'activité ATPasique et détermination de la typologie des fibres d'un muscle humain. A pH=4.6, les fibres de type I à l'activité ATPasique faible apparaissent en noir, les fibres IIA apparaissent pâles, les fibres IIB sont de couleur intermédiaire et les fibres IIC/IIX apparaissent plus foncées que les IIB. Neuromuscular Disease Centre, Washington University, St. Louis, USA.

Les fibres rapides, de moyen à gros calibre, apparaissent blanches car elles sont pauvres en myoglobine. Les fibres rapides, ou fast-twitch, se distinguent en deux sous-groupes : les fibres de type IIA et de type IIB. On trouve aussi dans la littérature les fibres IIX, décrites comme intermédiaires des deux principaux sous-groupes. La myosine ATPase présente dans les fibres rapides permet une vitesse de contraction 5 à 6 fois plus élevée que dans les fibres lentes. Les fibres rapides présentent un réticulum sarcoplasmique très développé, à l'origine d'une libération rapide et importante du calcium au moment de la contraction. Contrairement aux types I, les fibres II sont moins endurantes et sollicitent plus le métabolisme anaérobie pour produire l'ATP. Une fois les faibles réserves musculaires en ATP épuisées, la resynthèse d'énergie est principalement assurée par la dégradation de la phosphocréatine musculaire et du glycogène contenu dans le muscle et dans le foie. Selon la loi

d'Henneman¹⁶⁰, les fibres rapides sont progressivement recrutées en fonction de l'intensité de l'exercice, si bien que ces dernières sont impliquées dans les exercices supramaximaux, c'est-à-dire d'intensités supérieures à la puissance maximale aérobie.

d. Propriétés de l'action musculaire

On distingue trois types d'action musculaire : concentrique, statique et excentrique. Dans quasiment tous les mouvements du quotidien, chaque modalité intervient tour à tour pour assurer la globalité de l'action entreprise. La différence entre les modes de contraction est mécanique : un mouvement concentrique fait appel au raccourcissement du muscle, alors que sa longueur ne varie pas ou peu lors d'une contraction statique (ou isométrique) et qu'elle augmente lors d'un mouvement excentrique (Figure 7).

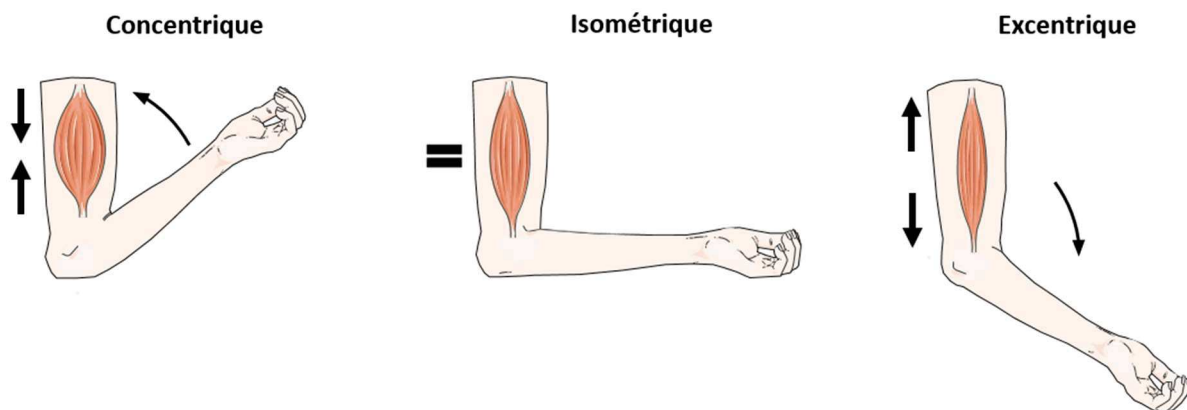


Figure 7 : Types de contraction musculaire. Le raccourcissement du muscle en concentrique permet de rapprocher l'une de l'autre les extrémités distale et proximale, tandis qu'une contraction isométrique permet de produire une force sans variation de longueur. En excentrique, l'allongement du muscle permet de résister à l'éloignement des extrémités distale et proximale.

La contraction musculaire se produit par le glissement des filaments de myosine sur le filament d'actine, rapprochant les deux extrémités du sarcomère. Le déplacement des filaments d'actine vers le centre du sarcomère fait disparaître la bande H (Figure 8). La tension exercée varie en fonction de la longueur du sarcomère, de sorte que le développement d'une force maximale s'obtient à une longueur dite « optimale » du muscle.

Cette propriété intrinsèque du muscle de produire une tension différente en fonction de la longueur du sarcomère définit la relation tension-longueur. La longueur du sarcomère est en effet directement reliée au nombre de ponts actine-myosine qu'il est possible de former : plus le sarcomère est raccourci,

plus l'encombrement stérique est important. L'étirement du sarcomère permet de libérer des sites de liaison et consécutivement d'augmenter les interactions entre les deux myofilaments.

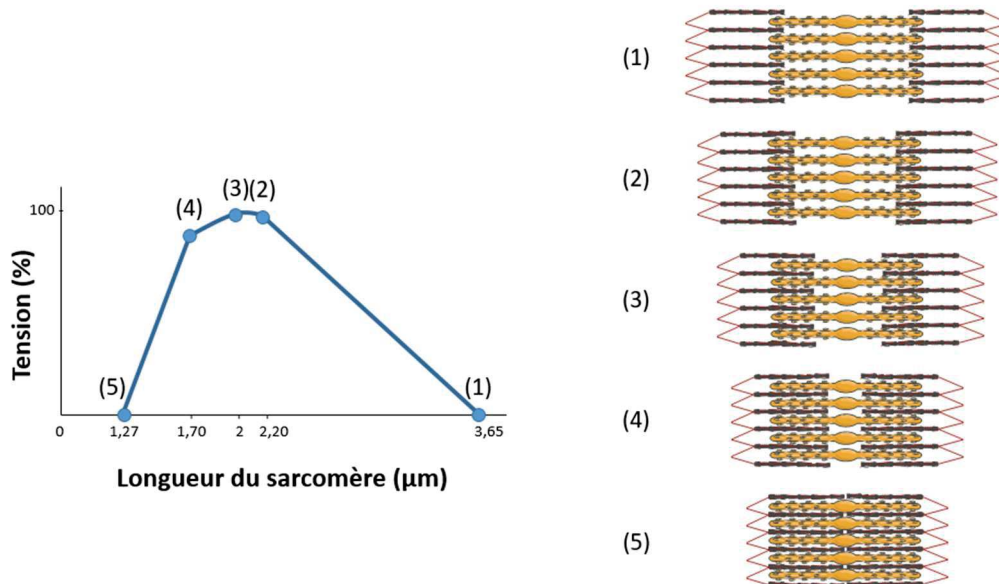


Figure 8 : Relation tension-longueur du sarcomère

Les capacités de production de force diffèrent aussi en fonction du mode et de la vitesse de contraction. Ces propriétés mécaniques du muscle sont modélisables par la relation force-vitesse (Figure 9). La contraction statique permet la production d'une force sans mouvement : le muscle résiste à une force externe trop importante pour permettre le déplacement des filaments les uns sur les autres. Les ponts entre actine et myosine se forment, générant une tension à vitesse nulle, sans raccourcir la longueur des unités contractiles. A vitesse nulle, on obtient ainsi la tension maximale isométrique. La tension maximale développée en contraction isométrique est supérieure à la force générée en mode concentrique. Lors d'une contraction concentrique, il existe une relation inverse entre la vitesse de raccourcissement du muscle et la tension générée, de sorte que plus la vitesse augmente, moins la force produite est importante.

La contraction excentrique reflète la capacité du muscle à générer une force lors de son allongement. Les ponts actine-myosine se forment alors pour résister à une charge externe qui éloigne l'un de l'autre deux segments séparés par une articulation. Ce mode de contraction particulier permet de générer de très hauts niveaux de force : en étirant les sarcomères, le nombre de sites de liaison entre les deux filaments augmente, diminuant l'encombrement stérique et permettant à un grand nombre de ponts actine-myosine de se former. De la même façon il est possible d'augmenter la force concentrique

produite en étirant préalablement le muscle, augmentant le nombre de liaisons possibles entre l'actine et la myosine.

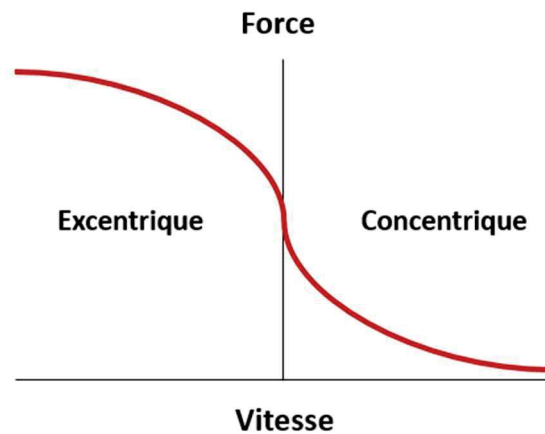


Figure 9 : Relation force-vitesse du muscle strié squelettique en fonction du type de contraction

1.3. Autres fonctions du système musculaire squelettique

Le système musculaire squelettique est un des tissus les plus plastiques du corps humain, capable de s'adapter continuellement au milieu qui l'entoure. La masse musculaire squelettique représente environ 40 à 50 % du poids corporel de l'Homme, faisant de ce tissu le plus grand réservoir protéique du corps humain. Si les muscles striés squelettiques assurent principalement les mouvements volontaires et donc la locomotion, ils ont de nombreuses fonctions à l'échelle de l'organisme entier. De par leur relation avec le système squelettique, une des fonctions du muscle est ainsi de maintenir la posture et d'assurer la stabilité du squelette et des articulations. Par ailleurs, en tant que composant majoritaire du corps, le tissu musculaire est responsable de la plus grande partie de la dépense énergétique basale. Le muscle est en effet une plaque tournante du métabolisme énergétique pouvant être lié à l'apparition de maladies métaboliques. Le tissu musculaire est le lieu principal d'utilisation du glucose et par conséquent, un régulateur majeur de l'homéostasie glucidique. La santé du tissu musculaire a ainsi une influence directe sur la sensibilité à l'insuline et les capacités de transport du glucose.

2. Réponses à l'exercice chronique

La propriété la plus remarquable du tissu musculaire réside dans sa faculté à s'adapter continuellement à son environnement. En effet, la masse musculaire est constamment régulée en réponse à différents stimuli, comme la charge mécanique qui lui est imposée, les facteurs de stress et de croissance, ainsi que l'état nutritionnel. L'exercice physique constitue une contrainte mécanique imposée au muscle et dès lors que cet exercice est pratiqué de manière chronique, sous forme d'entraînement, le tissu musculaire s'adapte pour mieux répondre aux sollicitations qui lui sont imposées. Ces adaptations physiologiques à l'exercice chronique se traduisent, *in fine*, par une augmentation des capacités musculaires et donc des performances. Les adaptations à l'exercice diffèrent en fonction du mode de contraction (concentrique, isométrique et excentrique) mais aussi du type d'exercice (résistance et endurance).

2.1. Adaptations à l'entraînement en résistance

L'exercice en résistance est un effort de courte durée qui implique de mettre en mouvement une charge externe ou d'y résister, comme le fait de soulever un poids ou d'étirer une bande élastique. En réponse à la demande de production de force, cette modalité d'exercice sollicite un recrutement important de fibres à dominante rapide dont le métabolisme est principalement glycolytique. En aigu, on note une augmentation de la demande en oxygène, une élévation de la fréquence et du débit cardiaque ainsi qu'une vasoconstriction périphérique des tissus non sollicités.

Répété de manière chronique, l'entraînement en résistance permet d'améliorer la production de force et la puissance musculaire en augmentant la surface des fibres et en modifiant leur typologie. La réponse musculaire à l'entraînement en résistance dépend des contraintes mécaniques et métaboliques imposées au muscle. En s'adaptant à ce niveau de contrainte, le tissu musculaire vise à diminuer le stress cellulaire lors d'expositions futures à l'exercice en résistance. La fréquence, l'intensité et le groupe musculaire sont autant de facteurs qui ont une influence sur l'amplitude des adaptations⁴⁴⁵. De la même façon, pour un même entraînement, le genre, l'âge, la génétique, le mode de vie, le stress et l'alimentation pourront faire varier les réponses à l'entraînement d'un individu à l'autre⁸.

a. *Phénotype musculaire*

La pratique d'un entraînement en résistance stimule l'anabolisme musculaire menant à l'hypertrophie des muscles sollicités. Les adaptations phénotypiques à l'entraînement en résistance peuvent être spectaculaires chez l'athlète et particulièrement chez les haltérophiles. Ce type d'adaptation requiert

cependant des années de pratique et demande une rigueur extrême dans l'entraînement. Les muscles du haut du corps sont généralement les plus hypertrophiés¹²⁶. Les phénotypes les plus extrêmes sont atteints par des hommes jeunes. Les gains de masse musculaire sont souvent plus modestes chez les femmes et tendent à diminuer avec l'âge²⁰⁵.

b. *Hypertrophie des fibres et typologie*

La prise de masse musculaire est consécutive à l'augmentation de la taille des fibres préexistantes sans que le nombre de myofibrilles ne varie réellement¹⁴¹. L'augmentation de la taille d'un muscle se fait grâce à la synthèse de nouvelles protéines myofibrillaires qui conduit à une augmentation du contenu protéique et de la surface des fibres (Figure 10). L'entraînement en résistance est ainsi à l'origine d'une synthèse accrue des filaments d'actine et de myosine amenant à une augmentation du volume des fibres^{11,246,249}. L'expansion de la machinerie contractile passe par l'ajout de sarcomères, principalement en parallèle, qui permet l'augmentation des capacités de production de force. Ces modifications en lien avec l'entraînement en résistance sont particulièrement visibles dans les fibres de type II⁴⁰⁹.

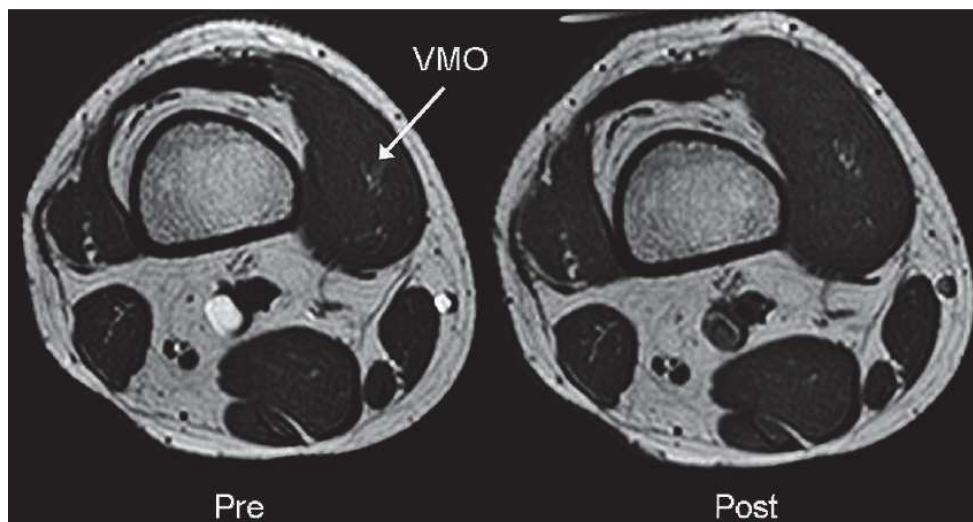


Figure 10 : Imagerie par résonance magnétique (IRM) du vaste médian oblique (VMO). La coupe transversale de la cuisse avant (Pre) et après (Post) un entraînement en résistance permet de distinguer l'hypertrophie du VMO induite par l'exercice chronique. D'après Wong et al., 2009.

Si la typologie musculaire est déterminée génétiquement lors de la croissance, l'entraînement en résistance est un stimulus capable de l'influencer³⁸⁵. Ainsi, sur le long terme, les fibres de type IIX, au phénotype glycolytique, peuvent être converties en type IIA, plus oxydatif⁴⁴⁹. Ce changement de typologie s'accompagne alors d'une augmentation de la densité mitochondriale, de la vascularisation et de l'activité des enzymes oxydatives permettant d'augmenter la résistance à la fatigue des groupes

musculaires soumis à l'entraînement en résistance⁴⁵⁹. Les études chez l'Homme s'intéressant à la modification de la typologie des fibres restent cependant fortement dépendantes de la nature même des programmes d'entraînement en résistance. Dans de nombreuses études, aucun changement typologique n'a été mis en évidence, et ce quelques soient les paramètres d'exercice comme l'intensité, la fréquence ou la durée d'entraînement⁴⁴⁹. Seule la vitesse de contraction semble détenir un rôle majeur dans le changement typologique des fibres en réponse à l'entraînement, avec une augmentation de la proportion en fibres rapides de type IIA^{12,116,449}.

c. *Modifications structurales*

L'hypertrophie d'un muscle requiert des modifications dans sa structure qui n'interviennent pas dans les phases précoces de l'entraînement. Parmi les composants clés de la relation force-vitesse d'un muscle, on retrouve la longueur des fibres et l'angle de pennation des faisceaux musculaires²⁹¹. Ce dernier correspond à l'orientation des fascicules musculaires par rapport à l'aponévrose, lieu de rattachement du muscle avec les structures tendineuses. La surface de section d'un muscle, et ainsi ses capacités de production de force, est principalement déterminée par l'angle de pennation²⁴¹. Par ailleurs, la vitesse de contraction d'un muscle dépend aussi de la longueur des fibres. L'ajout de sarcomères en parallèle peut augmenter l'angle de pennation¹³¹ et modifier la transmission de la force produite. Lorsque l'hypertrophie est très importante, l'augmentation excessive de l'angle de pennation provoque la diminution de la force produite par unité de surface⁹¹. A l'inverse, l'augmentation de la taille ou de la densité des myofibres peut avoir lieu sans changement de l'architecture musculaire et augmenter les capacités de production de force par unité de surface¹¹⁴. Une partie des gains de force précoces induits par l'entraînement en résistance semble provenir de ce phénomène.

Pour supporter l'augmentation des forces produites, la raideur des tendons augmente grâce au remodelage des tissus conjonctifs et à l'augmentation de leur contenu en collagène réticulé²¹⁴. L'augmentation de raideur des tendons a pour conséquence d'augmenter les capacités de production de force du muscle en optimisant la transmission des forces²¹⁴.

d. *Cellules satellites*

Les cellules souches musculaires, aussi appelées cellules satellites, ont un rôle majeur dans la régénération du tissu musculaire lésé. Une fois activées, elles prolifèrent, se différencient et fusionnent avec les fibres musculaires existantes. Les cellules musculaires, plurinucléées, peuvent ainsi voir leur nombre de noyaux varier avec le temps et les conditions mais les mécanismes précis de ces phénomènes restent à éclaircir. En réponse à l'entraînement en résistance, plusieurs études chez

l'Homme ont montré une augmentation de l'activation de ces cellules et/ou une augmentation de nombre de noyaux^{22,49,264,433}. L'ajout de nouveaux de noyaux au cours de l'hypertrophie musculaire par la fusion des cellules satellites permet d'augmenter le volume cytoplasmique^{22,382} (Figure 11). Cependant, il est pour l'heure difficile d'affirmer quelle part de l'activation des cellules satellites participe à l'hypertrophie induite par l'entraînement en résistance et laquelle provient d'un processus de régénération de microlésions musculaires provoquées par les hauts niveaux de force produits^{22,82}. Il semble aussi que l'activation des cellules satellites après l'exercice en résistance soit dépendante de son intensité²⁶⁴. Le contenu en cellules satellites augmente principalement dans les fibres rapides tandis qu'il semble peu affecté dans les fibres lentes, ces mêmes fibres rapides participant davantage à la réponse hypertrophique du muscle⁴³³.

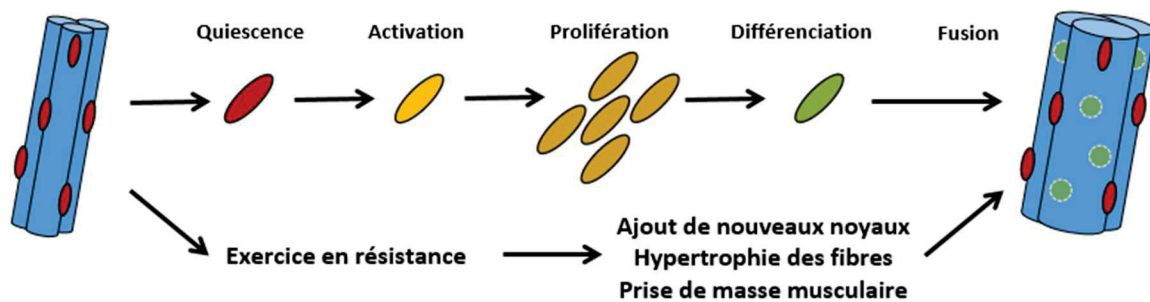


Figure 11 : Rôle des cellules satellites dans l'hypertrophie induite par l'entraînement en résistance

e. Adaptations nerveuses

L'exercice en résistance génère des adaptations musculaires et nerveuses facilitant le recrutement spatio-temporel des unités motrices et s'avère être le plus efficace pour développer la force musculaire. Les adaptations nerveuses expliquent une partie de ces gains de force et interviennent de façon précoce³²¹. C'est le recrutement des fibres lors de la contraction musculaire qui joue ici un rôle fondamental¹²⁶. Les unités motrices du muscle sont d'ordinaire recrutées de façon asynchrone et ne sont ainsi pas activées simultanément. L'entraînement en résistance permet l'augmentation de cette synchronisation dans le recrutement des unités motrices. Un nombre plus élevé d'unités motrices est alors activé simultanément, permettant de développer des forces supérieures. De même, la modification de la fréquence de décharge des unités motrices semble permettre l'augmentation des capacités de production de force⁴³². Cette adaptation requiert la modification morphologique de la jonction neuromusculaire mais reste un mécanisme marginal. Le système musculaire s'adapte aussi en optimisant l'activation des muscles sollicités³⁹⁸. Chaque muscle possède un antagoniste homolatéral et un synergiste (agoniste) controlatéral. L'entraînement en résistance permet ainsi d'améliorer la

coordination entre muscles agonistes et synergistes pour optimiser à la fois le moment de force et la stabilité de l'articulation. La contraction du muscle agoniste implique la relaxation de son antagoniste. Ainsi, une partie des gains de force s'explique par la meilleure coopération entre muscles agonistes, synergistes et antagonistes lors de l'exécution du mouvement.

f. *Métabolisme anaérobie*

L'entraînement en résistance provoque un stress métabolique suffisant pour induire une amélioration du métabolisme musculaire dans son ensemble, avec d'une part la biodisponibilité des substrats, et d'autre part l'activité des acteurs moléculaires nécessaire à leur métabolisation en énergie. Les premiers moments d'effort font appel à l'utilisation des stocks intramusculaires d'ATP et à la production d'ATP à partir de la phosphocréatine musculaire (système ATP-PCr). La créatine kinase catalyse la rupture de la liaison phosphoamide entre la molécule de créatine de son phosphate, libérant du phosphate inorganique (Pi) et de l'énergie (Figure 12). Cette énergie est recyclée pour lier le Pi à une molécule d'ADP, générant de fait de l'ATP directement mobilisable par la cellule musculaire. Les stocks de phosphocréatine permettent seulement d'assurer une partie de l'apport énergétique en ATP lors des premières secondes d'exercice.

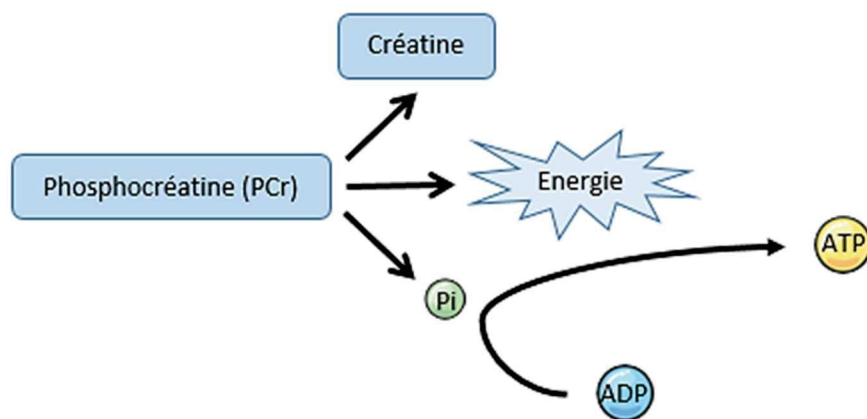


Figure 12 : Système ATP – Phosphocréatine

La continuité de l'apport en ATP lors d'un effort en résistance est assurée par le système glycolytique. La génération d'énergie est réalisée par hydrolyse du glucose (glycolyse). L'insuline a alors un rôle majeur dans le déstockage du glucose hépatique vers la circulation sanguine. Ce système beaucoup plus complexe fait aussi appel à des transporteurs spécifiques pour permettre le transfert du substrat de la circulation sanguine vers la cellule musculaire, les *glucose transporters* (GLUTs). Le glucose est aussi stocké directement dans le tissu musculaire sous forme de glycogène, assurant en partie l'apport

des substrats lors de la glycolyse, mais peut constituer un facteur limitant la durée de l'effort. L'activité des enzymes glycolytiques au sein de la cellule musculaire est aussi déterminante de l'efficacité du système.

L'entraînement en résistance permet d'optimiser les systèmes suppléant la demande énergétique des premiers moments d'effort. En conséquence, l'activité des enzymes glycolytiques et le contenu en glycogène sont augmentés alors que les concentrations intracellulaires en ATP et en phosphocréatine demeurent presque inchangées²¹⁶. Lors de l'exercice, l'apport en glucose augmente fortement dans les muscles sollicités⁴³⁹. Ce stress métabolique permet d'augmenter la sensibilité à l'insuline^{39,206,274} et la quantité de transporteurs transmembranaires du glucose⁹³. L'exercice chronique en résistance permet ainsi de promouvoir particulièrement le métabolisme glycolytique en améliorant le débit de la glycolyse.

Le tissu musculaire dans sa globalité s'adapte spécifiquement à l'exercice en résistance pratiqué de façon chronique. L'ensemble de ces adaptations, permettant de parvenir à une meilleure capacité de production de force, est résumé dans la Figure 13.

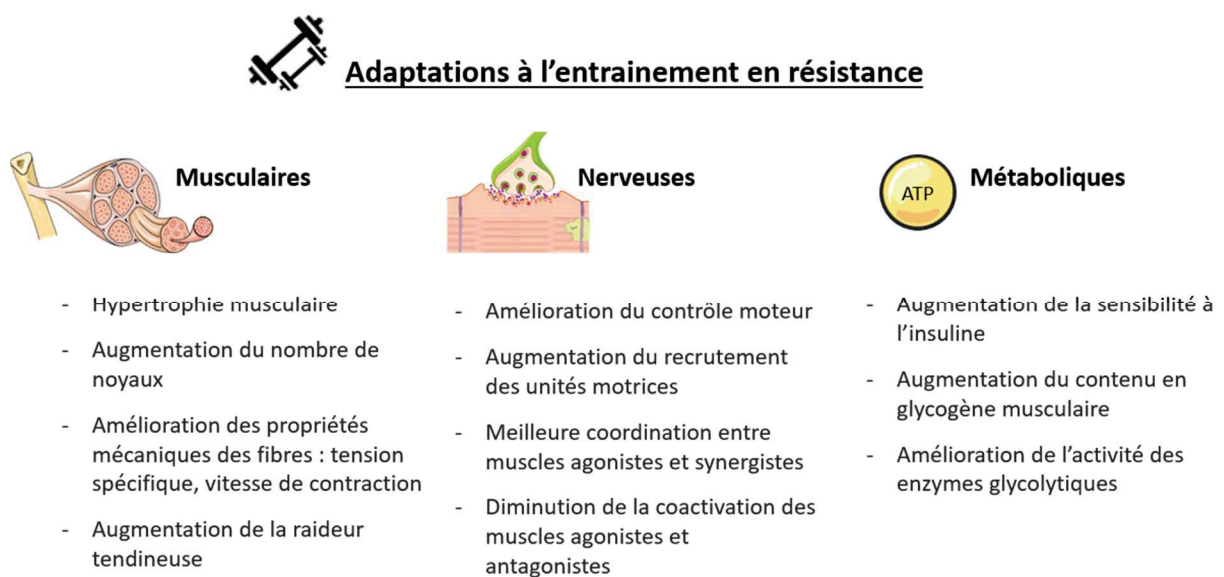


Figure 13 : Adaptations du tissu musculaire à l'entraînement en résistance

2.2. Adaptations à l'entraînement en endurance

Les exercices d'endurance se définissent comme des efforts de charge faible à modérée qui se maintiennent dans le temps. Ce type d'exercice implique principalement le métabolisme aérobie au

travers d'un nombre de contractions élevé favorisant le recrutement des fibres de type I. L'exercice d'endurance met en jeu de grands groupes musculaires dans des activités dynamiques comme le pédalage, augmentant le rythme cardiaque et la dépense énergétique aérobie. L'exercice d'endurance entraîne, en aigu, une augmentation de la consommation d'oxygène, de la pression artérielle, de la fréquence et du débit cardiaque pour suppléer à la demande aérobie.

Répétée de manière chronique, cette modalité d'exercice permet des adaptations musculaires visant à améliorer la capacité de transport et d'utilisation de l'oxygène, comme la capillarisation musculaire, la densité mitochondriale et l'activité des enzymes oxydatives. Ces adaptations du tissu musculaire aboutissent, *in fine*, à augmenter la résistance à la fatigue des groupes musculaires sollicités. En impliquant de manière quasi exclusive les fibres à dominante lente, l'exercice aérobie n'est en revanche pas autant efficace que l'entraînement en résistance pour augmenter la capacité de production de force et de puissance musculaire. La sollicitation aérobie chronique peut parfois induire l'hypertrophie des fibres, mais de façon limitée par rapport à l'exercice en résistance. Les adaptations majeures à l'endurance chronique concernent à la fois le système cardiovasculaire et les tissus périphériques pour permettre d'optimiser la capacité aérobie et donc l'aptitude à soutenir des efforts de plus en plus longs^{271,381}. La charge de travail, la fréquence des entraînements et leur durée conditionnent directement les adaptations à l'entraînement en endurance. Il existe aussi des facteurs interindividuels impactant l'amélioration de l'efficacité biomécanique du tissu musculaire, comme le sexe, l'âge, la génétique ou encore l'alimentation^{41,42,154}.

a. *Aptitude aérobie*

Les réponses cardiovasculaires à l'exercice influencent de façon importante les capacités d'adaptations du tissu musculaire à l'endurance. Parmi ces déterminants, on peut citer l'élévation du débit cardiaque, de la pression artérielle et des résistances périphériques permettant d'assurer un apport suffisant en oxygène et en substrats énergétiques aux muscles sollicités. La résultante principale de ces adaptations cardiovasculaires à l'entraînement en endurance est l'augmentation de la consommation maximale en oxygène (VO_{2max}).

L'entraînement de type aérobie favorise la genèse de nouveaux vaisseaux (angiogenèse) menant à une augmentation locale de la densité capillaire (Figure 14). La capacité de l'organisme à transporter et à diffuser l'oxygène dans le tissu musculaire retarde l'apparition de la fatigue musculaire lors d'un effort prolongé¹⁹³. La synthèse d'hémoglobine, de globules rouges et de myoglobine augmente les capacités de transport et de diffusion de l'oxygène vers les tissus sollicités. Ces adaptations au niveau systémique s'accompagnent d'adaptations locales du tissu musculaire visant à augmenter, d'une part, l'efficacité énergétique de l'organisme, et d'autre part, sa résistance à la fatigue.

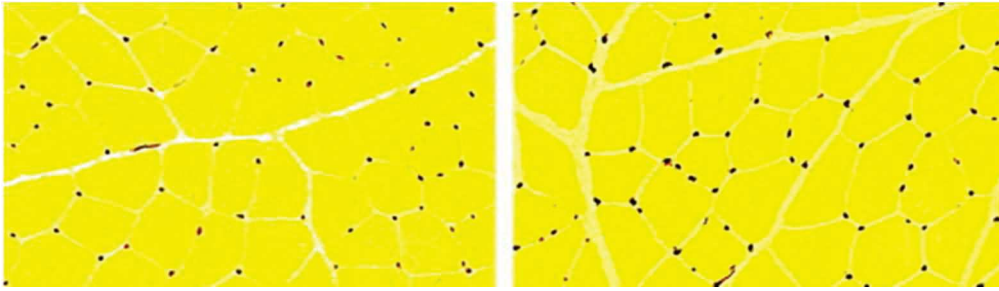


Figure 14 : Evaluation de la densité capillaire avant (à gauche) et après (à droite) un entraînement en endurance. Les vaisseaux capillaires marqués à la phosphatase alcaline puis au jaune de métanile sont visibles en noir alors que les fibres musculaires apparaissent jaunes. L'entraînement en endurance augmente la densité de ces capillaires par angiogenèse. D'après Prior et al., 2004.

b. Efficacité mécanique

La raideur des complexes muscle-tendons détermine l'efficacité de la transmission des forces et du stockage-restitution d'énergie élastique lors du mouvement. La raideur de la matrice extracellulaire et des tendons possède un rôle déterminant dans le stockage et la restitution de l'énergie élastique lors de la course ou des sauts. L'amélioration de la raideur active permet de diminuer les temps de contact au sol et consécutivement d'améliorer l'économie de course^{17,124}. Chez les athlètes élités, la raideur du complexe muscle-tendon est supérieure à celle d'une population moins active^{9,20}. La titine, protéine dont le premier rôle décrit était d'ordre structurel, semble aussi contribuer à la génération passive de force mécanique dont la restitution de l'énergie élastique emmagasinée au cours des phases de mise sous tension¹⁶².

Le coût énergétique de la locomotion dépend aussi de l'efficacité de la contraction musculaire. Il a été démontré que le recrutement des unités motrices lors de la course variait en fonction du niveau d'entraînement^{60,309}. Il semble ainsi que l'entraînement en endurance favorise la coactivation des muscles agonistes et le recrutement des fibres de type IIA, moins sensibles à la fatigue que les autres fibres rapides^{1,2}. Afin de répartir la charge de travail, l'exercice en endurance favorise le recrutement des unités motrices de façon asynchrone, retardant l'apparition de la fatigue. En augmentant à la fois la raideur du complexe muscle-tendon, la restitution de l'énergie élastique et en optimisant la contraction musculaire et permet l'amélioration des capacités individuelles en dehors de toute adaptation des fibres musculaires elles-mêmes.

c. *Hypertrophie des fibres et typologie*

L'augmentation de la masse musculaire induite par l'endurance chronique demeure modeste¹⁷⁷ et concerne uniquement les muscles moteurs importants comme le quadriceps dans le cadre d'activités de pédalage à une intensité élevée²⁰⁵. Il est désormais établi que la pratique d'une activité de ce type n'induit généralement pas, ou très peu, d'hypertrophie du muscle strié squelettique. Comme pour l'entraînement en résistance, les résultats sur le changement typologique des fibres en réponse à l'endurance chronique sont controversés. Plusieurs études ont mis en évidence une augmentation de la proportion de fibres de type I au détriment de la proportion de fibres rapides^{188,449} mais les facteurs déterminant ces adaptations et les mécanismes sous-jacents restent à établir.

Par ailleurs, des avancées notables dans le marquage des myosines ATPases rendent réductrice la catégorisation en fibres lentes et rapides. En effet, si l'expression des isoformes de myosine permet de distinguer 3 principaux sous-types chez les petits mammifères (I, IIA, IIB), les fibres sont pour la plupart hybrides et expriment plusieurs isoformes à la fois, rendant leur catégorisation relativement arbitraire. En identifiant directement par histochimie la myosine ATPase d'une fibre donnée, il est possible de différencier 7 types de fibres différents en fonction de l'intensité du marquage et du pH. Cette technique reste cependant peu fréquemment utilisée et la majeure partie des études continuent d'utiliser les 3 isoformes de chaînes lourdes de myosine pour évaluer la typologie musculaire³⁹⁰.

d. *Métabolisme oxydatif*

Parmi les adaptations majeures permettant d'augmenter la résistance à la fatigue du muscle strié squelettique, on note une augmentation de la biogenèse mitochondriale et de l'activité des enzymes oxydatives. Au sein du tissu musculaire, la mitochondrie représente le principal organite responsable de la synthèse d'ATP grâce à la chaîne de transport des électrons et au complexe ATP synthase. L'entraînement en endurance permet d'augmenter à la fois la densité mitochondriale mais aussi l'activité des enzymes qui contrôlent l'efficacité de la synthèse d'ATP à partir des substrats énergétiques en condition aérobie¹⁷¹.

Ces adaptations locales vont de pair avec une augmentation des capacités de transport de l'oxygène au sein du système cardiovasculaire¹⁵⁸. Ce couplage permet consécutivement une meilleure utilisation du pyruvate par oxydation, diminuant la production ainsi que l'accumulation de protons générés par le métabolisme anaérobie et contribuant à la fatigue musculaire¹⁰³. L'amélioration de l'utilisation cellulaire des lipides par oxydation est concomitante avec la réduction du débit énergétique des voies métaboliques associées aux carbohydrates.

L'augmentation de la densité mitochondriale (Figure 15) en réponse à l'entraînement en endurance nécessite l'activation de PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha), connu comme un régulateur majeur de la biogenèse des mitochondries. Son expression s'accompagne de l'augmentation de différents marqueurs comme p53, régulant la fonction mitochondriale²⁶⁶, ou encore PHF20 (PHD finger protein 20), qui possède un rôle stabilisateur de p53 et inducteur de son expression⁸⁹.

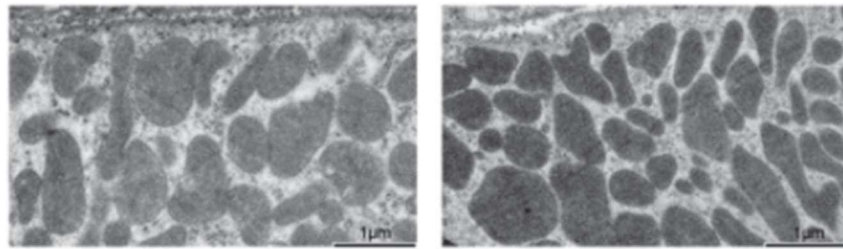


Figure 15 : Augmentation de la taille et de la densité mitochondriale en réponse à l'entraînement en endurance visualisée par microscopie à transmission électronique. La densité et la taille des mitochondries sont majorées dans un muscle soumis à un entraînement en endurance, à droite, comparé à un muscle sédentaire, à gauche. D'après Picard et al., 2013.

La densité et l'activité mitochondriale sont aussi majoritairement évaluées par l'activité de la citrate synthase (CS) ou de la cytochrome c oxydase (COX). Selon les modalités d'entraînement, on assiste à une augmentation de la densité et/ou de la respiration mitochondriale⁴⁵⁹. Les études chez l'Homme restent limitées mais suggèrent que l'intensité de l'entraînement influence principalement l'activité mitochondriale tandis que le volume d'entraînement a davantage d'impact sur la densité mitochondriale²⁵⁰.

L'exercice d'endurance répété de manière chronique est aussi associé à un meilleur stockage des triglycérides intramusculaires augmentant la biodisponibilité des substrats du métabolisme oxydatif utilisés dans la mitochondrie. Parallèlement, ce sont aussi les capacités de transport des substrats extra-musculaires qui sont améliorées grâce à la synthèse de transporteurs spécialisés^{39,345}. Par exemple, on note une augmentation des capacités de transport du glucose et des acides gras de la circulation sanguine vers les cellules musculaires. L'endurance est ainsi associée à une augmentation des niveaux des transporteurs membranaires comme GLUT4 (Glucose Transporter 4) et de FAT (Fatty Acid Translocase)¹⁷⁷. Enfin, la déplétion des stocks de glycogène intramusculaires est un facteur critique de la fatigue musculaire. Les changements provoqués par l'entraînement en endurance au profit du métabolisme oxydatif permettent de conserver de hauts niveaux de glycogène intramusculaire retardant l'apparition de la fatigue^{171,177}.

Les adaptations à l'exercice en endurance pratiqué de façon chronique concernent le tissu musculaire dans sa globalité. L'ensemble de ces adaptations, permettant d'augmenter la capacité de l'organisme à soutenir un effort de plus en plus long et intense, est résumé dans la Figure 16.

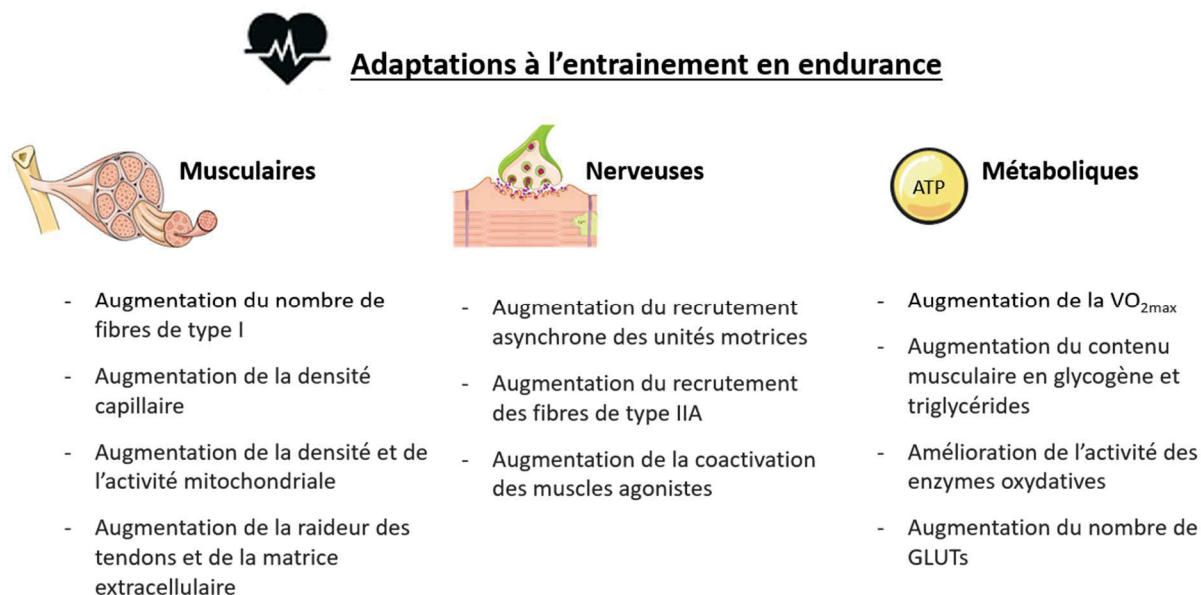


Figure 16 : Adaptations du tissu musculaire à l'entraînement en endurance

Si, d'une manière générale, l'exercice possède un effet bénéfique sur la fonction du tissu musculaire, les adaptations diffèrent en fonction du type d'entraînement. Tandis que l'entraînement en résistance est plus à même d'augmenter les capacités de production de force, l'entraînement en endurance améliore la résistance à la fatigue. Ces adaptations spécifiques à chaque modalité d'exercice pratiquée de façon chronique sont résumées dans la Table 1.

Résistance	Endurance
Hypertrophie des fibres	Augmentation de la densité capillaire et mitochondriale
Augmentation de la force et de la puissance	Augmentation de la résistance à la fatigue
Amélioration de la transmission de force	Amélioration de l'économie de course
Augmentation de la vitesse de contraction	Augmentation de l'apport en oxygène (VO_{2max})
Amélioration du métabolisme anaérobie	Amélioration du métabolisme aérobie

Table 1 : Spécificités des adaptations à l'entraînement en résistance et en endurance

2.3. Adaptations à l'entraînement combiné

Il est communément accepté que l'exercice soit catégorisé d'effort en résistance ou d'effort en endurance en fonction du niveau de charge et de la durée d'exercice, mais l'exercice en résistance ou en endurance « pur » est extrêmement rare. La majorité des activités physiques s'apparente à un type d'exercice dominant mais comprend finalement résistance et endurance. L'entraînement combinant volontairement endurance et résistance est appelé entraînement combiné. Tout comme chaque type d'exercice est associé à des réponses physiologiques spécifiques, l'exercice combiné entraîne des adaptations qui lui sont propres. Peu d'études se sont intéressées aux réponses physiologiques aiguës à l'exercice combiné, quelques-unes mettant en évidence une augmentation de la consommation d'oxygène post-exercice^{33,434}. La réponse aiguë à l'exercice combiné est dépendante de l'ordre dans lequel les exercices d'endurance et de résistance sont réalisés. Lorsque l'exercice d'endurance est réalisé avant l'exercice de résistance, la force maximale est réduite de l'ordre de 10%^{108,388}. A l'inverse, en réalisant l'exercice de résistance en premier, aucune diminution de la force maximale n'a été mise en évidence⁵². Cet effet, connu sous le nom « d'effet d'interférence », s'accroît lorsque l'exercice combiné est pratiqué de manière chronique.

a. Effet d'interférence

Dans les années 80, le Dr. Hickson a comparé les effets d'un entraînement en résistance ou en endurance seul avec un programme d'exercice combiné sur l'aptitude aérobie et la force des membres inférieurs¹⁶⁴. Ses observations ont fait état d'une moindre augmentation de la force après un programme combiné par rapport à un entraînement en résistance, tandis que l'amélioration de l'aptitude aérobie ne différait pas en comparaison à un entraînement en endurance seul. Depuis, il est établi que lorsque les deux types d'exercice sont combinés au cours de l'entraînement du sujet sportif, une compétition entre les adaptations propres à chaque type d'effort opère et donne lieu à un phénomène d'interférence biologique au sein de tissu musculaire. Celui-ci se traduit par des adaptations neuromusculaires moins prononcées tandis que la puissance aérobie ne semble pas affectée.

Ainsi, il apparaît que l'entraînement en endurance limite le développement de force induit par l'entraînement en résistance sur le même groupe musculaire (Figure 17). A l'inverse, il semble que l'entraînement en résistance ne limite pas les gains de puissance et d'aptitudes aérobies chez le sujet entraîné, et pourrait même être bénéfique sur la fatigabilité des muscles sollicités lorsque la quantité de travail en endurance ajoutée est légère. La méta-analyse de Wilson et al. suggère que l'effet d'interférence n'opère pas de façon systématique lors d'un entraînement combiné, l'augmentation de

la force n'étant pas toujours significativement différente par rapport à un entraînement en résistance⁴⁵⁰.

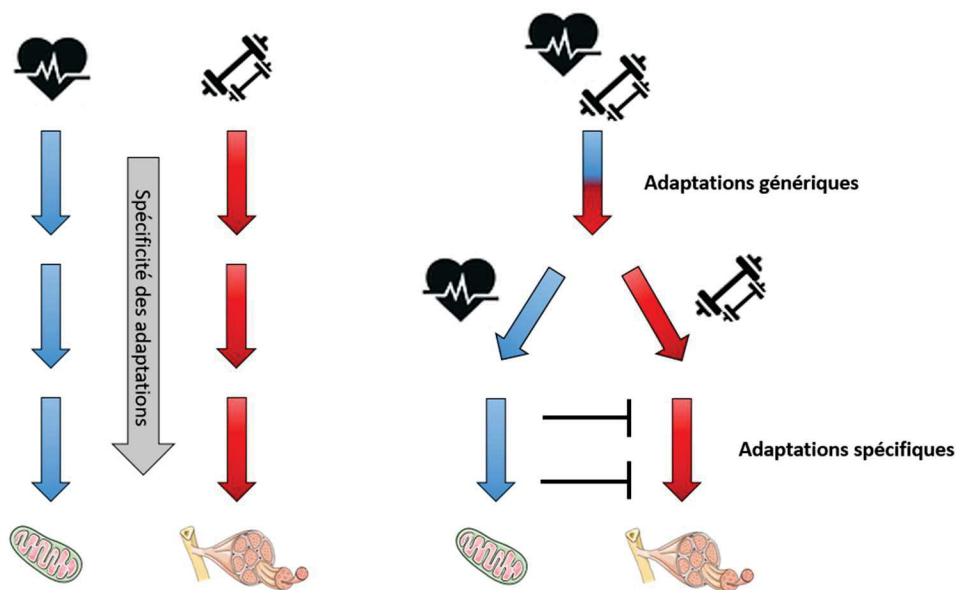


Figure 17 : Effet d'interférence sur le développement de force lors de l'entraînement combinant exercices d'endurance et de résistance

b. Facteurs favorisants

Plusieurs facteurs influent sur le phénomène d'interférence comme le volume de travail, l'ordre des séances ou le temps de récupération. Un volume de travail important, la pratique de l'exercice en endurance avant l'effort en résistance et un temps de repos court semblent favoriser le phénomène et limiter les gains de production de force³⁴⁸. L'analyse des études menées chez l'Homme met en évidence d'autres facteurs influençant l'amplitude du phénomène d'interférence, comme le mode d'exercice en endurance. La course à pied est associée à un phénomène d'interférence impactant la prise de force et de masse musculaire des jambes, ce qui n'est pas le cas avec les sports de cycle⁴⁵⁰. Enfin, la méta-analyse révèle que l'amplitude de l'interférence dépend principalement du volume et de l'intensité des exercices d'endurance. Lorsque l'intensité est élevée, la charge de travail haute et que les exercices sont longs, la pratique de l'endurance inhibe l'augmentation de la force musculaire¹⁶⁴ voire l'hypertrophie du muscle²¹³.

Si plusieurs mécanismes potentiels ont été avancés pour expliquer l'effet d'interférence, le manque de données mécanistiques rend difficile la compréhension complète du phénomène et des facteurs déterminant son amplitude. Dans l'élaboration des programmes d'exercice combiné, les facteurs décrits précédemment comme favorisant l'effet d'interférence sont pris en considération.

c. Programmes continus

Lorsque l'exercice combinant endurance et résistance dans la même session est pratiqué de façon chronique, les adaptations physiologiques diffèrent en fonction de la séquence des exercices. L'optimisation de la force requiert la pratique des exercices de résistance avant les exercices d'endurance^{105,288}. En revanche, l'ordre des exercices ne semble pas avoir d'impact sur les réponses hypertrophiques et cardiovasculaires^{105,288}. Le temps de récupération entre deux séances consécutives joue un rôle primordial^{105,288}. Les fréquences d'entraînement élevées semblent favoriser la fatigue neuromusculaire et engendrer une diminution des capacités de production de force comme dans le cas du surentrainement^{105,288}.

Les adaptations nerveuses à l'entraînement combiné semblent aussi dépendre de l'ordre des exercices de résistance et d'endurance. A la fin d'un programme de 12 semaines, Eklund et al.¹⁰⁷ ont relevé une augmentation significative du niveau d'activation du vaste latéral lorsque les exercices de résistance étaient systématiquement réalisés en premier, ce qui n'était pas le cas dans l'ordre inverse. D'autres études ont corroboré ces observations, indiquant une légère inhibition neuronale de la contraction maximale volontaire lorsque l'exercice d'endurance précède l'exercice de résistance au cours d'un programme combiné, même lorsque les capacités de production de force ne sont pas impactées⁵². L'optimisation de la production de force nécessiterait ainsi la pratique des exercices de résistance en amont des exercices d'endurance et serait liée à un meilleur couplage neuromusculaire sans changement structurel ou morphologique⁵³.

d. Programmes discontinus

Afin d'éviter ce phénomène d'interférence au cours d'un entraînement combiné, il a été suggéré de pratiquer les exercices d'endurance et de résistance sur des sessions distinctes. Les programmes d'exercice combiné « discontinus » ou « périodisés » impliquent l'alternance de séances de résistance ou d'endurance. La séparation temporelle des deux modes d'exercice pourrait réduire la fatigue neuromusculaire induite. Les études à ce sujet sont encore peu nombreuses, mais il a été démontré, chez le sujet non entraîné, que la répartition des exercices d'endurance et de résistance sur des jours alternés permettait de meilleurs gains de force³⁶⁴. Les bénéfices amenés sur la production de force par des temps de récupération importants entre les deux modes d'exercice ont récemment été mis en avant. Cette dernière étude établit qu'un temps de récupération d'au moins 6 heures est requis entre les exercices de résistance et d'endurance, et que ce temps de repos nécessaire est porté à 24 heures entre deux sessions d'endurance³⁴⁹.

Les adaptations cardiorespiratoires à l'exercice combiné semblent d'autant plus sensibles à ces temps de récupération. En effet, il a été montré qu'un programme d'exercice combiné discontinu pouvait doubler l'amplitude des améliorations de l'aptitude aérobie comparé à un programme continu^{108,389}. Il est à noter qu'au cours de ces études, ni l'évolution de la force, ni celle de la masse musculaire ne différait entre les deux programmes. Cependant, le groupe présentant la plus grande augmentation de la VO_{2max} était aussi celui dont la valeur de départ était la plus basse. D'autres études, conduites cette fois sur des sujets plus entraînés, ont mis en avant de plus larges améliorations de la composition corporelle¹⁰⁸, de la hauteur de saut²⁵³ ou encore de la commande motrice¹⁰⁷ après un programme discontinu.

2.4. Adaptations à l'entraînement en excentrique

La contraction excentrique, ou travail négatif, s'oppose au travail positif de l'action concentrique en impliquant l'allongement du muscle pour résister à une force externe. Ce mode de contraction tire profit de la structure de la machinerie contractile pour générer de hauts niveaux de force à très faible coût métabolique.

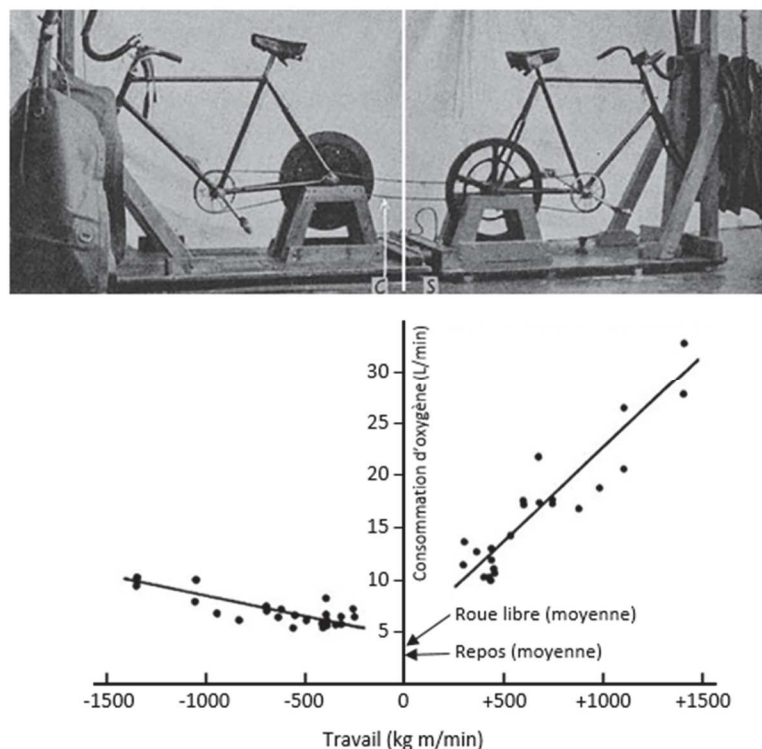


Figure 18 : Dispositif expérimental pour estimer la dépense énergétique associée au travail excentrique. En haut : L'ergomètre expérimental, où deux vélos étaient placés dos à dos et couplés mécaniquement par la même chaîne. Tandis qu'un cycliste pédalait vers l'avant (à droite) en produisant de la force par raccourcissement du quadriceps (travail positif), l'autre résistait au mouvement des pédales (à gauche) en générant de la force par allongement du quadriceps (travail négatif). En bas : Mesure de la dépense énergétique correspondant au travail négatif (à gauche) et positif (à droite). Les charges de travail étaient équivalentes dans les deux conditions. D'après Abbott et al., 1952.

Pour le même travail effectué, l'exercice excentrique apparaît comme nettement moins coûteux que le travail concentrique, comme l'ont démontré pour la première fois Abbott et Bigland, en 1952, en couplant mécaniquement dos à dos deux vélos par l'intermédiaire d'une seule et même chaîne (Figure 18). Le cycliste qui résistait au mouvement de rotation des pédales consommait 3 à 6 fois moins d'oxygène, et donc d'énergie, que le cycliste qui initiait le mouvement⁴. Le faible coût énergétique du travail négatif s'explique par la sollicitation des propriétés intrinsèques du muscle et l'intervention de mécanismes passifs rendue possible sous l'effet de l'étirement du tissu. Mécaniquement, sous l'effet d'une contrainte externe, la contraction excentrique stimule de façon importante la composante élastique du tissu musculaire, incluant le tendon, la jonction myotendineuse et les tissus de soutien. Cette composante élastique définit la raideur active du muscle, qui, à l'inverse de la compliance, se traduit par la capacité du tissu à résister à son propre étirement.

D'abord proposé par Hill en 1938¹⁶⁵ puis modifié par Shorten en 1987³⁹⁶, le modèle mécanique du muscle décrit les forces passives et actives du tissu musculaire (Figure 19). La modélisation comprend une composante contractile (CC) reliée en série à une composante élastique (CES), toutes deux montées en parallèle à une autre composante élastique (CEP). La composante contractile comprend les sarcomères, dont les filaments d'actine et de myosine peuvent générer une tension active lors de la contraction. La composante élastique en série est divisée en deux parties : la partie active, localisée au niveau des ponts actine-myosine ; et la seconde, la partie passive, représentée par les tendons et le tissu conjonctif associé riche en collagène. La composante élastique parallèle est composée du tissu conjonctif maintenant les fibres musculaires, les différentes membranes au sein du muscle comme le sarcolemme ainsi que certaines protéines de structure telles que la titine et la desmine.

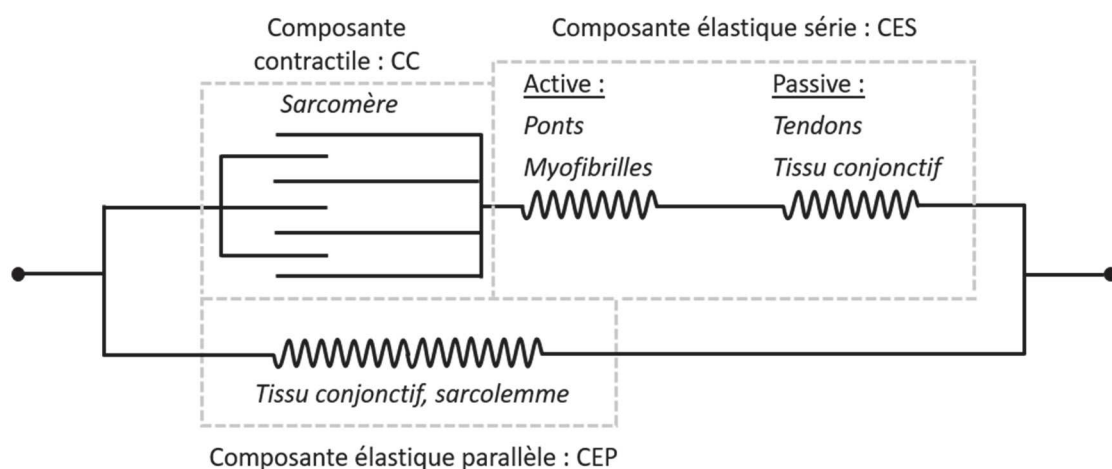


Figure 19 : Modèle mécanique du muscle strié squelettique d'après Shorten, 1987

Parallèlement au rôle important de la composante élastique, l'efficacité du travail excentrique s'explique aussi par l'intervention de mini-cycles d'attachement et de détachement des têtes de myosine aux filaments d'actine, sans consommation d'ATP. L'allongement du sarcomère provoque une mise sous tension de la titine, permettant à la seconde tête de myosine de s'attacher à son tour. En conséquence, le nombre de ponts actine-myosine peut doubler sous l'effet de l'allongement, et permet le développement de forces particulièrement élevées par rapport à l'action isométrique et aux contractions de type concentrique⁴⁷. Si *in vitro*, les forces développées en régime excentrique peuvent alors doubler par rapport à une action isométrique, *in vivo*, les forces maximales excentriques atteignent des valeurs sensiblement inférieures en raison de l'existence de réflexes inhibiteurs de protection de l'appareil locomoteur³.

a. Particularités du régime excentrique

La génération de très hauts niveaux de force permise lors de contractions excentriques rapides peut conduire à des lésions musculaires et tendineuses comme des ruptures. Ainsi, les microdommages successifs causés par la répétition de contractions excentriques à forte intensité sont à l'origine de douleurs rétroactives (Delayed Onset Muscle Soreness, DOMS). Elles sont souvent associées à l'élévation de certaines protéines sanguines traduisant une inflammation, comme la créatine kinase et la myoglobine, ainsi qu'à une baisse temporaire des capacités de production de force³³².

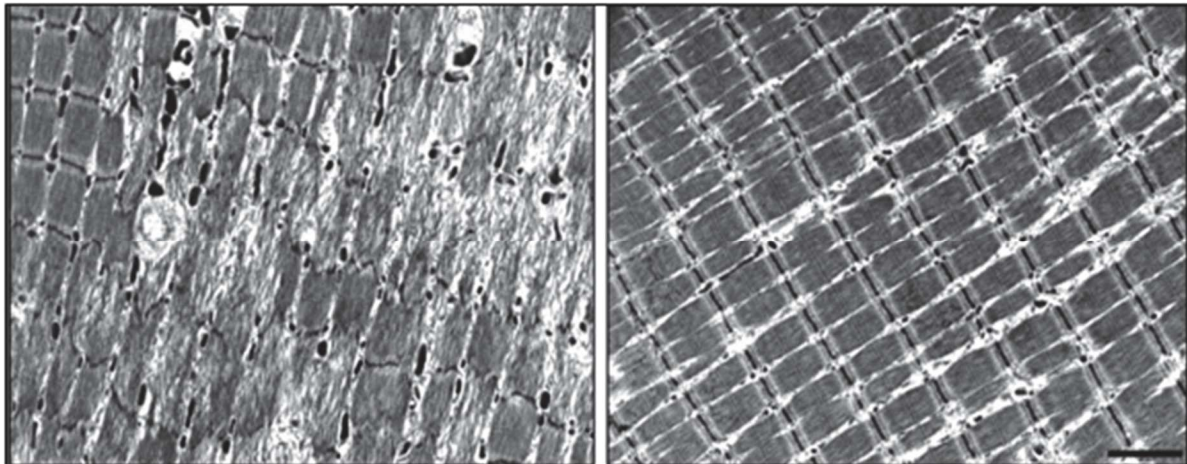


Figure 20 : Dommages musculaires liés à l'exercice excentrique. Disruption des sarcomères (à gauche) mise en évidence une heure après un exercice excentrique et comparée à un tissu non endommagé (à droite) photographié au microscope électronique. D'après Paulsen et al., 2009.

Il est possible de préparer les fibres musculaires à un effort excentrique et de prévenir les dommages musculaires et tendineux associés (Figure 20). L'augmentation progressive de la charge permet

d'induire un effet protecteur des structures musculo-tendineuses. Ce phénomène, appelé « Repeated Bout Effect » (RBE), peut être induit après une seule session de contractions excentriques de faible intensité (10% à 20% de la force maximale isométrique)²³². A cette intensité, les marqueurs de dommage musculaire varient de manière mineure. Les mécanismes sous-jacents de cette protection sont encore à l'étude¹⁸⁰.

Les adaptations du muscle à l'exercice excentrique interviennent ainsi de façon précoce et concernent à la fois la structure et la fonction du tissu. Face à une contrainte importante, le muscle s'adapte pour se protéger, et l'amplitude des adaptations est associée à un remodelage musculaire qui se déroule sans dommage musculaire ni inflammation persistante. Les adaptations générées par la répétition de contractions excentriques diffèrent en de nombreux points de celles associées à l'exercice concentrique.

b. Adaptations structurelles et cellulaires

En sollicitant la composante élastique du tissu musculaire, l'exercice excentrique provoque rapidement son renforcement. Pour augmenter cette raideur active et donc la résistance à l'étirement, tout le système muscle/tendon doit se renforcer. Au niveau structurel, on peut ainsi noter un épaissement des stries Z et de la composante élastique en série, diminuant la compliance au niveau des unités contractiles. La longueur du fascicule et l'angle de pennation augmentent alors sous l'effet de l'addition de sarcomères en série, tandis que l'exercice concentrique engendre essentiellement leur addition en parallèle^{130,131,172} (Figure 21).

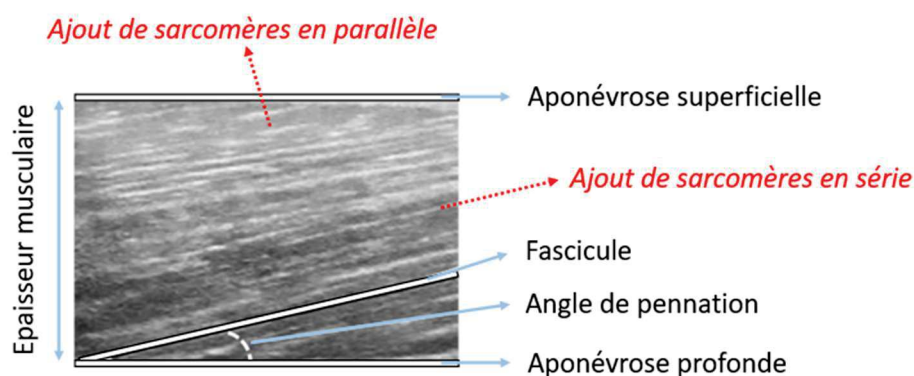


Figure 21 : Schéma des adaptations structurelles à l'exercice concentrique et excentrique. L'hypertrophie, augmentation de l'épaisseur du muscle, peut à la fois être atteinte après un entraînement en concentrique permettant l'ajout de sarcomères en parallèle, ou grâce à l'addition préférentielle de sarcomères en série après un entraînement en excentrique, augmentant aussi la longueur du fascicule.

Quelle que soit la modalité d'exercice, l'activité physique permet le renforcement des tissus péri-tendineux, et cette augmentation de raideur des tendons permet alors une meilleure transmission des forces à des vitesses plus élevées. L'augmentation de raideur est très fortement liée au contenu en collagène réticulé qui est majoré sous l'effet des contraintes mécaniques répétées lors d'exercices de type excentrique¹⁰². Au niveau tendineux, certains auteurs soulignent une augmentation de la synthèse de collagène de type I au niveau périphérique, permettant d'augmenter la raideur du tendon, mais ces résultats ne semblent pas forcément liés exclusivement à l'exercice excentrique mais plutôt à la charge de travail, cette dernière étant bien supérieure en régime excentrique²²². L'augmentation de la raideur active du muscle permet le stockage de l'énergie élastique accumulée pendant la résistance à l'étirement³²³. Cette propriété confère au tissu la capacité de restituer sans délai cette énergie lors d'une contraction concentrique, potentialisant le niveau de force que le muscle peut d'ordinaire développer sans cette phase d'allongement préalable. La contraction concentrique qui suit la phase excentrique est alors plus explosive, avec une montée en force plus rapide. La réalisation de ces deux exercices à la suite constitue la base des exercices pliométriques.

L'exercice excentrique génère aussi des adaptations sur le plan nerveux, en abaissant la sensibilité des organes tendineux de Golgi. Ces organes, situés à la jonction entre le muscle et le tendon, agissent comme de véritables jauges de contrainte du muscle et sont sensibles à la tension développée par l'ensemble muscle-tendon. Leur rôle est inhibiteur, et l'information sensorielle qu'ils transmettent au système nerveux central permet la protection du tissu musculaire face à une contrainte jugée trop élevée. Lorsqu'ils sont activés, ces récepteurs entraînent une inhibition des muscles en contraction (agonistes) conjointement à une excitation des muscles antagonistes. L'exposition chronique des organes tendineux de Golgi aux forces développées en mode excentrique diminue leur sensibilité, permettant alors d'améliorer le réflexe myotatique par levée d'inhibition¹⁵⁶. Ce phénomène favorise la synchronisation des muscles agonistes et antagonistes et donc la rapidité de la montée en force lors de l'action concentrique d'un exercice pliométrique. La répétition de contractions excentriques permet aussi l'apprentissage du mécanisme d'inhibition réciproque, responsable du relâchement des muscles antagonistes pendant l'exercice¹⁵⁹.

En générant des tensions 1,5 fois plus grandes que la force maximale volontaire en isométrie, l'exercice excentrique permet aussi le recrutement des fibres rapides de type II. Une augmentation du nombre de cellules satellites a aussi été observée uniquement dans ce type de fibres. Cette réponse différentielle des cellules satellites à l'effort excentrique est probablement en lien avec leur rôle primordial dans la régénération musculaire et les microlésions engendrées par l'étirement du tissu lors de l'effort¹⁷⁰. A l'échelle cellulaire, on peut noter l'importance de la titine, protéine géante, qui

contribue à l'élasticité de tout le système contractile¹⁶¹. La desmine semble aussi jouer un rôle dans la fonction élastique du tissu soumis à un régime excentrique³¹⁹.

c. Adaptations fonctionnelles

L'efficacité de l'exercice excentrique pour générer des charges élevées permet des adaptations précoces du tissu musculaire à l'origine de gains fonctionnels. La force excentrique détermine la capacité du muscle à résister face à une contrainte externe comme la gravité. Les mouvements quotidiens tels que la marche ou la descente d'escaliers incluent des mouvements concentriques, isométriques et excentriques. Les contractions excentriques interviennent principalement pour supporter le poids du corps en s'opposant à la force gravitationnelle. Sur un dénivelé négatif ou lors de la réception d'un saut, la force excentrique permet de freiner la descente du poids de corps et donc d'éviter la chute. La pratique de l'exercice excentrique de façon chronique permet d'augmenter la capacité du tissu musculaire à développer et à maintenir cette force résistive particulière au mode de contraction excentrique.

Après seulement 1 semaine d'exercice excentrique, des gains de puissance musculaire concentrique de l'ordre de 5% ont été décrits²³⁴. Sur des durées d'entraînement plus longues, des gains significatifs de la force musculaire isométrique ont été reportés²²⁸. Il est alors intéressant de noter que les gains associés à l'exercice excentrique peuvent être transférables à d'autres modes de contraction et vitesses de mouvement, contrairement à ce qui a été suggéré pendant longtemps sur la spécificité de la force excentrique. Une partie des gains de force en excentrique permet ainsi d'améliorer la force maximale volontaire en isométrie et la performance concentrique^{234,236}.

Cellulaires	Structurelles	Fonctionnelles
Augmentation de la synthèse protéique	Hypertrophie musculaire	Augmentation de la force
Activation des cellules satellites	Allongement du fascicule	Amélioration de la puissance
Recrutement additionnel des fibres rapides (type II)	Épaississement des stries Z	Diminution du risque de chute
Stimulation de la synthèse de collagène	Augmentation de la raideur de la matrice extracellulaire et de l'épaisseur tendineuse	Transfert des gains en isométrique et concentrique

Table 2 : Adaptations cellulaires, structurelles et fonctionnelles de l'entraînement en excentrique

Cette transférabilité pourrait s'expliquer par une augmentation de la raideur des complexes muscles tendons et des adaptations de la machinerie contractile ainsi qu'à une amélioration de la conduction du signal nerveux ou par l'amélioration de la commande motrice^{110,234}. Ce transfert de gains pourrait aussi être attribué à une meilleure synchronisation des muscles agonistes, antagonistes et synergistes, rendant l'action plus efficiente en termes de force²³⁴. L'exercice excentrique permet ainsi des adaptations cellulaires précoces, impactant directement la structure même du tissu musculaire et permettant d'en améliorer la fonction (Table 2).

3. Déconditionnement musculaire

Le tissu musculaire, de par sa plasticité, répond aussi bien à une augmentation du stress mécanique qui lui est imposé qu'à une diminution de celui-ci. Ainsi, si l'exercice permet d'augmenter la force et/ou la masse musculaire, le manque d'activité physique produit l'effet inverse et se traduit par une perte de force et/ou de masse musculaire. Dans le cadre du vieillissement physiologique mais aussi dans de nombreuses pathologies chroniques, la perte de masse et de force musculaire est le résultat d'une diminution des activités physiques quotidiennes.

3.1. Vieillesse

Le déconditionnement musculaire lié au vieillissement est appelé sarcopénie. Signifiant littéralement « perte de chair » dans son origine grecque, la sarcopénie se définit comme une atrophie musculaire naturelle liée à l'âge, qui se traduit par une perte progressive de masse et de force musculaire. Parallèlement à l'inactivité physique, de nombreux facteurs contribuent au développement de la sarcopénie, comme l'état nutritionnel, les maladies chroniques et le processus de vieillissement en lui-même. La diminution naturelle de la masse musculaire débute dès l'âge de 30 ans⁴³, s'estime à environ 1% par an aux environs des 50 ans et peut atteindre 50% de la masse musculaire initiale au-delà de 80 ans⁴⁴⁸. Du fait de l'augmentation de l'espérance de vie de la population mondiale, la prévalence de la sarcopénie ne cesse d'augmenter. Dans les années 2000, la part de la population américaine âgée de plus de 60 ans et présentant un état de sarcopénie était estimée à plus de 35%¹⁸⁶.

a. Diagnostic de la sarcopénie

Depuis les années 1990-2000, les critères et les outils diagnostics de la sarcopénie n'ont cessé d'évoluer^{21,231}. Pour autant, aucun critère universel de détection et de classification de la sarcopénie n'est encore clairement établi. Un index divisant la masse musculaire mesurée par DXA (absorption biphotonique à rayons X) par la taille élevée au carré a d'abord été proposé par Baumgartner et al.²¹ à

la fin des années 90, de la même façon que le surpoids s'évalue par l'IMC (indice de Masse Corporelle). La sarcopénie était alors diagnostiquée si la masse musculaire relative était inférieure de plus de deux écart-types à la moyenne d'une population de référence²¹. Plus tard, un indice de masse musculaire, correspondant au pourcentage de masse musculaire évaluée par impédancemétrie et rapporté à la masse corporelle, fut proposé pour établir une classification de la sévérité de la sarcopénie¹⁸⁷. L'indice de masse musculaire était alors considéré comme normal s'il se situait à moins d'un écart-type de la moyenne calculée pour chaque genre. La classe II de la sarcopénie, dite sévère, correspondait à une valeur d'indice de masse musculaire éloignée de plus de deux écart-types de la valeur de référence. La classe I rassemblait les valeurs intermédiaires et était définie comme une sarcopénie légère¹⁸⁷.

Néanmoins, il existe toujours un débat entre la perte de masse, *i.e.* la sarcopénie, et la diminution de la force musculaire, *i.e.* la dynapénie, car elles ne sont pas toujours associées⁶⁸. Le terme dynapénie s'utilisait initialement pour décrire une perte fonctionnelle de l'ensemble du système neuromusculaire. Cette définition permettait d'inclure dans la perte de fonction liée à l'âge des phénomènes cellulaires, nerveux ou encore métaboliques indépendants de la perte de masse, suggérant qu'il n'existait pas toujours de proportionnalité entre masse et force musculaire⁶⁸. Plusieurs études ont depuis corroboré cette hypothèse : la perte de masse musculaire explique seulement une partie de la diminution des capacités de production de force^{68,178,278}. La conservation de la masse musculaire au cours de l'avancée en âge ne protège ainsi pas de la perte de capacités fonctionnelles^{69,143,316}.

Le diagnostic de la sarcopénie ne repose donc pas sur des critères diagnostics internationaux, mais en 2010, un consensus européen, donné par l' « European Working Group on Sarcopenia in Older People » (EWGSOP), a donné une première définition clinique de la sarcopénie comme étant une diminution de la quantité et de la qualité du tissu musculaire⁸⁴. Face à la non-linéarité de la relation entre force et masse musculaire^{69,143}, la faiblesse musculaire a été reconnue comme premier critère diagnostic, s'accompagnant ou non d'une masse musculaire réduite. Plusieurs stades ont ainsi été suggérés, débutant par la présarcopénie avec une diminution légère de la masse musculaire, puis la sarcopénie si une perte concomitante de la force musculaire ou de la performance physique est présente. Enfin, le dernier stade, rassemblant l'expression des trois critères de masse, de force et de performance, permettait de définir la sarcopénie sévère⁸⁴.

L'EWGSOP propose différentes techniques utilisables en routine clinique et en recherche pour l'évaluation de la masse musculaire, mais recommande la tomodensitométrie (scanner) ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM) à des fins de recherche et l'absorptiométrie (DXA) ou l'impédancemétrie en clinique⁸⁴. En fonction de la méthode de mesure choisie, le groupe préconise

d'utiliser l'une des méthodes proposées par Baumgartner et al.²¹ ou par Janssen et al.¹⁸⁷ pour le calcul d'un indice de masse musculaire (Figure 22).

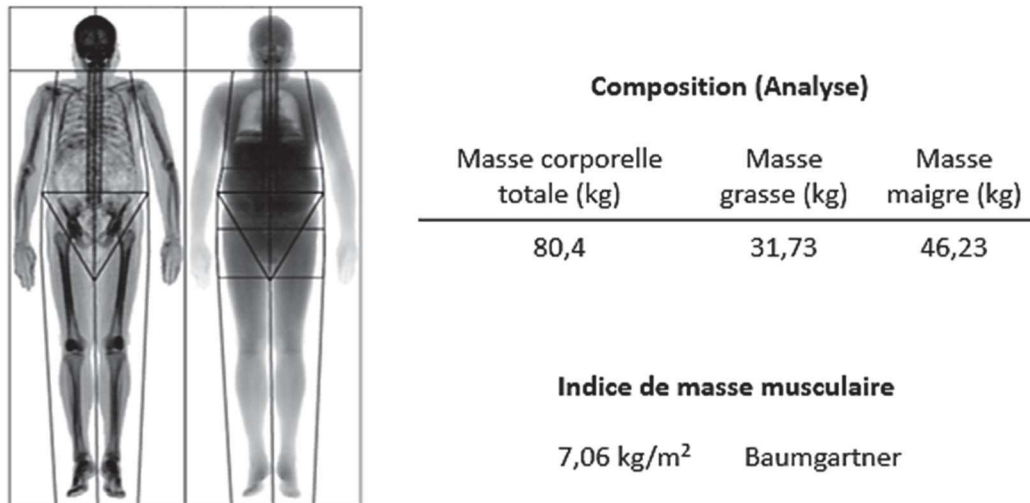


Figure 22 : Evaluation de la sarcopénie par DXA d'après Shepherd, 2016

Pour l'évaluation de la force musculaire, le consensus européen propose la mesure par dynamométrie de la force de préhension pour les membres supérieurs et la force d'extension du genou pour les membres inférieurs⁸⁴. La mesure de la performance physique peut être effectuée par une batterie de tests validée sous le nom de Short Physical Performance Battery⁸⁴. Le score de fonction physique tient compte de l'équilibre, de la force et de l'endurance et peut à la fois être utilisé en routine clinique et en recherche²⁸¹. D'autres tests fonctionnels, comme celui de la vitesse de marche, du *timed-up and go* ou encore du *stair climb power* peuvent aussi constituer des mesures de performance⁸⁴. L'ensemble des points limites de chaque mesure permettant de comparer les résultats obtenus à des valeurs de références sont donnés par l'EWGSOP pour poser le diagnostic de sarcopénie⁸⁴.

En 2016, la sarcopénie a officiellement été reconnue comme un état pathologique¹⁵, et l'EWGSOP a mis à jour sa définition originale ainsi que les critères diagnostics établis jusqu'alors⁸⁵. La force musculaire, jusqu'ici considérée comme un critère secondaire, est depuis établie comme une caractéristique clé de la dégradation de la fonction musculaire. Elle apparaît aussi comme beaucoup plus prédictive que la masse musculaire dans l'apparition de chutes, d'incapacités ou de maladies^{235,378,379}. La classification de la sarcopénie évolue aussi dans le consensus européen révisé, avec le dépistage d'une probable sarcopénie dès la diminution des capacités de production de force⁸⁵. La sarcopénie est confirmée si une perte de quantité ou de qualité du tissu musculaire est présente, et

elle est de surcroît sévère si la performance physique est faible⁸⁵. L'ajout du questionnaire SARC-F, comprenant 5 questions et donc facilement utilisable en routine clinique, est préconisé en amont de toute mesure pour détecter un risque d'apparition de la sarcopénie²⁵⁴.

Outre les mesures de masse, de force et de performance physique déjà publiées dans la version initiale, l'EWGSOP propose l'utilisation de marqueurs comme la créatine utilisée lors de la synthèse de la PCr au sein du muscle⁸⁵. La quantité de créatinine ajoutée à l'excès de créatine qui n'a pas été métabolisé par le tissu musculaire et a directement été excrété par les urines permet de quantifier la masse musculaire totale⁸⁵. Le groupe européen préconise aussi l'utilisation d'examen d'imagerie musculaire comme l'échographie pour déterminer la surface de section, l'épaisseur du muscle, l'angle de pennation et l'échogénicité du tissu⁸⁵. Ce dernier paramètre reflète la qualité du muscle strié squelettique, les éléments non-contractiles étant hyperéchogènes⁸⁵.

b. Remodelage musculaire

Au cours de l'avancée en âge, le muscle squelettique subit un remodelage et perd une partie de son matériel contractile. L'atrophie musculaire induite par le vieillissement résulte à la fois d'une réduction du nombre de fibres qui le composent (hypoplasie) et de leur taille. La part respective de ces deux mécanismes dans la sarcopénie reste à éclaircir, la diminution de la surface de section du muscle chez le sujet âgé n'ayant pas toujours été associée à une réduction du nombre total de fibres⁴⁴⁸. Chez l'Homme, la perte de fibres musculaires affecte à la fois les fibres lentes et les fibres rapides²³⁹. Les fibres rapides, ou de type II, sont en revanche les plus affectées par la diminution de la surface de section²³⁹, et particulièrement les fibres IIX^{14,76,238}. Au niveau moléculaire, la diminution de l'expression protéique des chaînes lourdes de myosines concerne les MyHC IIA et IIX, ces dernières étant les plus impactées³⁹⁴.

Cependant, la présence d'une part de fibres non innervées et une réduction du nombre de motoneurones¹⁰¹ ont été démontrées chez le sujet vieillissant⁴⁰⁷, suggérant un rôle délétère du remodelage neuromusculaire dans la perte de force non corrélée à la perte de masse²⁹⁸. La perte des unités motrices (*i.e.* l'ensemble de fibres musculaires innervées par un même motoneurone) avec l'avancée en âge est liée à la diminution des capacités de production de force^{324,325}. S'il est possible d'assister à une réinnervation de certaines fibres préalablement dénervées grâce au secours d'axones environnants, ce processus de compensation ne semble pas éviter à terme l'apparition de la sarcopénie³²⁶. Il semble ainsi que la perte de force au cours du vieillissement fasse intervenir de façon concomitante la réduction du nombre et de la taille des fibres mais aussi la dénervation d'une part des fibres restantes.

La sarcopénie affecte le tissu musculaire dans son ensemble, et cette dysfonction musculaire liée à l'âge implique aussi des altérations métaboliques et particulièrement de la fonction mitochondriale³⁹⁴. La part de production d'énergie assurée par les voies aérobies tend alors à diminuer au profit d'autres voies métaboliques associées à une fatigue musculaire précoce. La mitochondrie possédant aussi un rôle dans la régulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'altération de cette fonction induit leur accumulation conduisant à un stress oxydant délétère pour l'organisme entier. Parallèlement, l'avancée en âge s'accompagne d'infiltrations graisseuses (Figure 23) du tissu musculaire (IMAT), dont la quantité est corrélée à la perte de fonction musculaire^{142,435}.

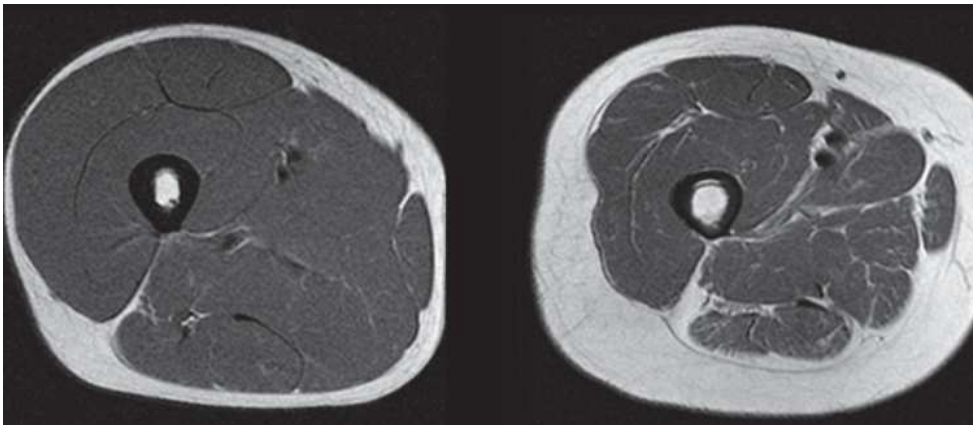


Figure 23 : Sarcopénie vue par imagerie à résonance magnétique (IRM). Coupe transversale de la cuisse d'un homme de 25 ans, à gauche, et d'un homme de 63 ans, à droite. Le tissu musculaire apparaît en gris tandis que le tissu adipeux et l'os sont blancs. La perte de masse musculaire avec l'âge s'accompagne d'une augmentation de la quantité d'infiltrats graisseux autour et dans le muscle. Buck Institute for Research on Aging, Novato, USA.

c. Conséquences fonctionnelles

Une importante perte de fonction musculaire et une réduction de la coordination motrice conduit à une augmentation du risque de chute et de blessure. La perte de la force des membres inférieurs, et particulièrement des muscles formant le *quadriceps femoris*, s'établit à environ 30% après l'âge de 70 ans, et à plus de 50% après 90 ans par rapport à celle d'un jeune adulte³³⁰. Les capacités de production de force des membres inférieurs dans le quotidien sont directement liées à l'équilibre statique et dynamique³⁹⁹. L'altération de l'équilibre postural conduit à une augmentation du risque de chute, à l'origine de 95% des fractures de la hanche chez les séniors⁴¹¹.

Lorsque la force musculaire décline, la mobilité diminue nécessairement, ainsi que les capacités à réaliser les tâches quotidiennes comme se lever d'une chaise et marcher, ce qui conduit à terme à la

perte d'autonomie et à la dépendance. L'altération des capacités physiques nécessaires à la vie quotidienne diminue considérablement la qualité de vie²⁷². Ainsi, si la durée de vie approche les 80 ans en France, l'espérance de vie sans incapacité, qui traduit le nombre d'années avant la survenue d'évènements invalidants, se situe aux alentours des 60 ans⁵⁷.

Chez les personnes âgées, l'altération de l'équilibre et de la force favorise un mode de vie sédentaire entretenant la dégradation du tissu musculaire soumis à peu de contraintes¹²¹. Les difficultés fonctionnelles de production de force et de résistance à la fatigue sont de surcroît accompagnées par une détérioration du métabolisme dans sa globalité, à l'instar de la dysfonction mitochondriale décrite précédemment. L'altération des capacités de production d'énergie au sein de la cellule musculaire au cours du vieillissement est associée à une diminution de la consommation maximale en oxygène (VO_{2max})^{75,395}, de la vitesse de marche^{75,395} et de la force maximale isométrique³⁶⁰. Tous ces paramètres sont corrélés à une augmentation du risque d'incapacité fonctionnelle, d'hospitalisation mais aussi à une plus forte mortalité^{278,333,400}.

3.2. Sédentarité

L'activité physique exerce une action protectrice sur les conséquences physiologiques délétères du vieillissement, mais, à l'inverse, le manque d'exercice tend à les accélérer. Un niveau suffisant d'activité physique est corrélé à une meilleure espérance de vie tandis qu'un comportement sédentaire est lié à une augmentation de la mortalité prématurée³². A terme, les effets de la sédentarité comprennent des événements aigus comme les chutes mais aussi l'apparition de pathologies chroniques au cours du vieillissement. La pratique insuffisante d'une activité physique favorise l'apparition d'un syndrome de fragilité et donc la survenue de nouveaux évènements impactant l'état de santé global.

a. Définition et prévalence

Pendant des millénaires, l'Homme dépensait quotidiennement énormément d'énergie pour assurer sa survie. Jusqu'en 1950, la population occidentale sédentaire effectuait 8 heures en moyenne d'activité physique quotidienne, imposée par le travail et les déplacements. Depuis, à cause du travail assisté par les machines, du développement des automobiles et de l'utilisation d'ascenseurs, l'activité quotidienne a progressivement été réduite pour se stabiliser actuellement autour de 30 minutes par jour ; réduisant la dépense énergétique de façon extrêmement marquée⁸⁰. Les termes « sédentarité », « comportement sédentaire » et « inactivité physique » ne faisait pas l'objet d'une utilisation consensuelle. Face à ce manque de définition universelle et aux confusions existantes dans la

littérature scientifique, le Sedentary Behavior Research Network (SBRN) a alors établi un consensus en distinguant l'inactivité physique, les comportements inactifs et la sédentarité⁴²⁹. Ainsi, la sédentarité est définie comme une dépense énergétique insuffisante, souvent évaluée par le biais des équivalents métaboliques, où 1 équivalent métabolique équivaut à l'énergie dépensée uniquement pour assurer les fonctions vitales de l'organisme, sans aucune activité physique.

$$1 \text{ MET} \equiv 1 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} * h} \equiv 4,184 \frac{\text{kJ}}{\text{kg} * h}$$

La dépense énergétique au repos, à jeun et dans des conditions de neutralité thermique dépend à la fois du genre, du poids et de l'âge de chaque individu ; mais aussi d'autres facteurs comme l'état nutritionnel, la composition corporelle et l'état physiologique. Pour un sujet adulte en bonne santé, le métabolisme de base correspond à une consommation d'oxygène de 3,5 mL d'O₂.min⁻¹.kg⁻¹.

MET	Activité
1	Lire, regarder la télévision
	Manger, s'habiller
2-3	Marcher lentement
	Réaliser des tâches ménagères légères
4-6	Monter quelques marches
	Marcher à bonne allure, courir doucement
	Porter des charges
	Faire des activités d'intensité modérée (golf, jardinage,...)
7-10	Courir, faire du vélo, nager
	Soulever, déplacer des charges lourdes
>10	Faire des activités d'intensité élevée (tennis, basketball, football,...)

Table 3. Equivalents métaboliques (MET) en fonction de l'activité pratiquée

Les activités physiques peuvent ainsi être classées suivant leur intensité en utilisant l'équivalent métabolique comme référence, permettant de traduire le rapport de la dépense énergétique liée à l'activité sur le métabolisme de base. Une échelle de l'équivalence métabolique a été établie pour estimer facilement la dépense énergétique d'une activité. Plus l'intensité d'une activité est élevée, plus le nombre de MET associé est important (Table 3). La définition la plus courante de la sédentarité est une dépense énergétique inférieure à 1.5 MET. Aucun consensus international n'étant établi, d'autres

définitions de la sédentarité sont retrouvées dans la littérature, principalement établies sur la base d'une dépense énergétique calculée en METs, mais les valeurs seuils divergent (Table 4).

Définition	Référence
« Le comportement sédentaire peut être défini comme ayant une valeur MET comprise entre 1 et 1,5 (l'équivalent de s'asseoir ou de se coucher par exemple) »	307
« Les comportements sédentaires ont été définis comme ayant un MET < 2,0 (par exemple, l'équivalent de s'asseoir ou de s'allonger) »	365
« Classe distincte de comportements caractérisés par une faible dépense énergétique »	30
« Le comportement sédentaire implique des activités à très faible dépense énergétique (1,0 à 1,8 MET), réalisées principalement dans une position assise ou couchée »	185
« Le comportement sédentaire fait référence aux activités qui n'augmentent pas la dépense énergétique sensiblement au-dessus du niveau de repos et comprend des activités telles que dormir, s'asseoir, s'allonger et regarder la télévision, et d'autres formes de divertissement sur écran. Opérationnellement, le comportement sédentaire comprend les activités qui impliquent une dépense énergétique allant de 1,0 à 1,5 unité d'équivalent métabolique (MET) »	318
« Les comportements sédentaires tels que regarder la télévision, utiliser un ordinateur ou s'asseoir dans une automobile se situent généralement entre 1,0 et 1,5 MET. Ainsi, les comportements sédentaires sont ceux qui impliquent une position assise et de faibles dépenses d'énergie »	306
« S'asseoir, s'allonger et dépenser très peu d'énergie (environ 1,0 à 1,5 MET) »	308
« Activités «non debout» »	63
« Les comportements sédentaires sont considérés comme ceux nécessitant $\leq 1,5$ MET »	430
« Le terme comportement sédentaire (du mot latin sedere, « s'asseoir ») décrit une classe distincte d'activités qui nécessitent une faible dépense d'énergie » dépenses de l'ordre de 1,0 à 1,5 MET (multiples du taux métabolique de base) et impliquent de s'asseoir pendant les trajets domicile-travail, sur le lieu de travail et l'environnement domestique, et pendant les loisirs »	426
« Comportement sédentaire, défini comme le temps passé assis ou couché »	62

Table 4. Exemples de définitions de la sédentarité retrouvées dans la littérature d'après

Tremblay et al., 2017

Toutefois, le calcul de la dépense énergétique en MET ne suffit pas pour évaluer à lui seul un comportement sédentaire, ce critère ne tenant pas compte des habitudes de vie néfastes pour la santé²⁵². Afin d'intégrer les temps d'immobilité prolongés et d'établir un consensus au sein de la communauté scientifique, la sédentarité a été plus récemment définie par le SBRN comme « *tout comportement éveillé caractérisé par une dépense énergétique $\leq 1,5$ MET, en position assise ou allongée* »^{252,429}.

Cependant, la complexité de la sédentarité rendant la détermination de points limites difficile, des seuils d'activité physique nécessaires au maintien de la santé ont été établis. Les recommandations de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) font état, pour un adulte en bonne santé, d'un minimum de 150 minutes par semaine d'effort aérobie à une intensité modérée ou 75 minutes à une intensité élevée, ou une combinaison équivalente des deux. Plus d'un tiers de la population mondiale et deux tiers de la population américaine de plus de 65 ans ne suivraient pas ces recommandations⁴⁵⁶.

b. *Conséquences de la sédentarité sur la santé*

Depuis 2012, l'inactivité physique est ainsi devenue la première cause de mortalité évitable dans le monde, avec un nombre de décès associé supérieur au tabagisme. Dans un rapport de l'OMS, la sédentarité serait responsable à elle seule de 10% des décès en Europe⁴⁵³. Sur le plan psychologique, le comportement sédentaire est associé à de la dépression, de l'anxiété ou encore des troubles cognitifs²⁵². Dans ce cadre, la sédentarité est définie comme un problème de santé publique et un enjeu contemporain majeur⁹⁷. Dans ce sens, l'OMS mène une action mondiale de promotion de l'activité physique avec comme objectif de réduire de 10% la prévalence mondiale de la sédentarité d'ici 2025⁴⁵⁴.

De nombreuses études ont démontré les effets néfastes des périodes d'inactivité prolongée sur la santé, augmentant entre autres le risque d'apparition de maladie cardiovasculaire, de diabète et d'obésité³². Le dysfonctionnement métabolique, facteur de risque cardiovasculaire majeur, est un des effets les plus précoces des comportements sédentaires. Chez des adultes en bonne santé soumis à un alitement, aussi connu sous le nom de « *bed rest* », 5 jours d'inactivité suffisent à provoquer une augmentation au niveau plasmatique des triglycérides, du cholestérol total et du glucose¹⁵¹. Les changements concernant le métabolisme glucidique sont particulièrement marqués et impliquent une diminution du nombre de transporteurs du glucose comme GLUT1 et GLUT4^{43,198}, ainsi qu'une résistance à l'insuline¹⁵¹.

c. Remodelage musculaire

La plasticité du tissu musculaire se traduit par une réponse adaptative à la diminution des contraintes mécaniques liée à l'inactivité physique et forme un cercle vicieux du déconditionnement (Figure 24). Ainsi, les mécanismes physiologiques associés à la sédentarité ressemblent en de nombreux points à ceux d'un vieillissement précoce de l'organisme. Le remodelage consécutif à la sédentarité comprend des altérations de la commande motrice, des propriétés musculaires intrinsèques, de la typologie musculaire, du métabolisme musculaire et de la fonction mitochondriale qui vont finalement retentir sur les caractéristiques contractiles.

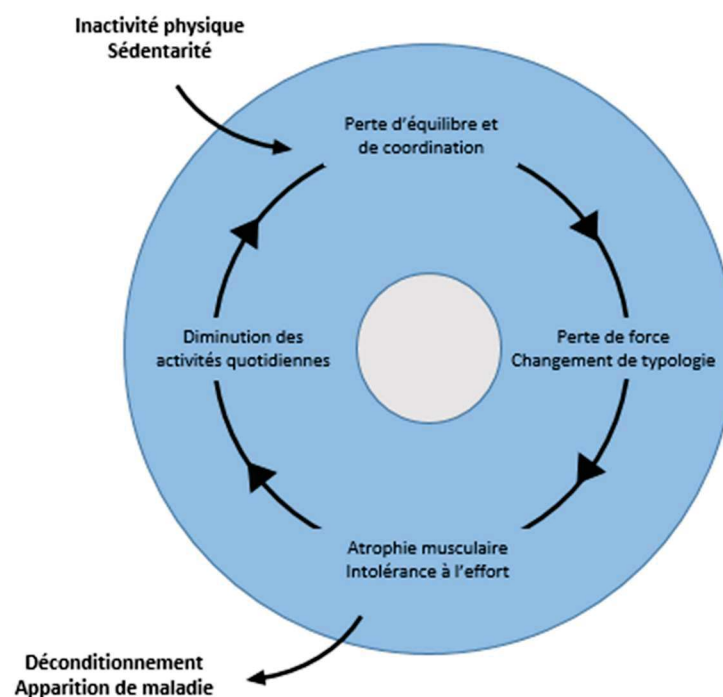


Figure 24 : Cercle vicieux du déconditionnement

3.3. Maladies chroniques

Si la sarcopénie est un phénomène physiologique inévitable qui fait partie du processus normal de vieillissement, le déconditionnement musculaire est réversible chez le sujet sain en augmentant la dépense énergétique quotidienne. Toutefois, dans le cadre de pathologies chroniques, l'adoption d'un comportement sédentaire et le remodelage musculaire qu'il entraîne peuvent être irréversibles et jouer un rôle négatif majeur dans la qualité de vie des malades mais aussi dans l'évolution de la maladie.

a. Définition et prévalence des maladies chroniques

L'Organisation Mondiale de la Santé définit la maladie chronique comme toute affection de longue durée nécessitant une prise en charge de 6 mois ou plus. Ces affections s'accompagnent généralement de nombreuses complications ou d'invalidités qui ont un retentissement majeur sur la vie quotidienne des patients. En France, ce sont 20 millions de patients qui souffrent de pathologies chroniques, soit près d'un tiers de la population⁴⁵⁵. D'après le rapport sur les maladies non transmissibles établi par l'OMS en 2018, 71% des décès dans le monde, soit 41 millions de personnes, étaient la conséquence d'une maladie chronique en 2016, contre 63% (36 millions de personnes) en 2008⁴⁵⁵. En France, ce sont 88% des décès de la même année qui sont attribuables aux maladies chroniques (Figure 25). Ces chiffres sont en constante augmentation avec un taux de croissance annuel moyen allant de 1.1% à plus de 4% en fonction de la pathologie⁴⁰¹. Grâce aux progrès de la recherche et de la médecine, on vit désormais nettement mieux et surtout plus longtemps qu'une vingtaine d'années auparavant avec une maladie chronique. Autrefois rapidement mortelles, des pathologies comme le diabète, l'hémophilie ou la mucoviscidose sont aujourd'hui devenues des maladies chroniques traitées sur le long terme. Le vieillissement de la population explique aussi la constante augmentation de la part de malades chroniques dans le monde, devenant un réel enjeu de société.

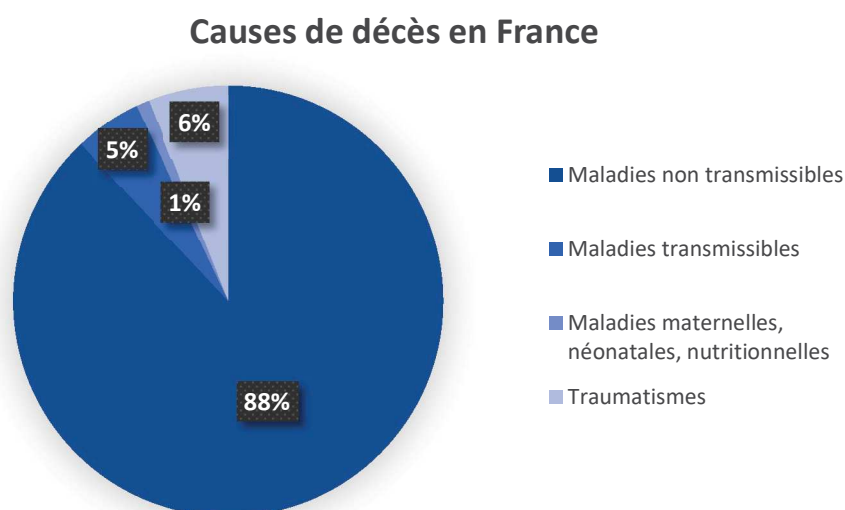


Figure 25 : Répartition en pourcentage des causes de décès en France pour l'année 2016 selon l'Organisation Mondiale de la Santé

Les maladies chroniques comprennent principalement les maladies cardio-vasculaires (athérosclérose, hypercholestérolémie, hypertension artérielle, insuffisance coronaire ou valvulaire,...), les cancers, le

diabète (type 1 et 2), les maladies respiratoires (bronchopneumopathie chronique obstructive, asthme...), les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, sclérose en plaque...), certains troubles mentaux (dépression, schizophrénie...), certaines maladies rares (mucoviscidose, drépanocytose...) et l'insuffisance rénale chronique. L'augmentation de la prévalence de ces maladies est en partie liée aux changements de nos modes de vie et donc au niveau grandissant de sédentarité.

b. Dysfonction musculaire

La présence de pathologies chroniques aggrave le remodelage musculaire souvent déjà induit par le manque d'activité physique^{167,211}. Le déconditionnement musculaire secondaire à une pathologie chronique ne fait que s'amplifier du fait du comportement sédentaire induit ou maintenu par la maladie et son traitement, entretenant un cercle vicieux menant d'abord à la fragilité puis à la dépendance. Chez les patients souffrant de maladies chroniques, la fonction des membres inférieurs est considérée comme l'indicateur principal d'indépendance dans les tâches quotidiennes ; la force et l'endurance des membres inférieurs étant les principaux facteurs limitant la mobilité⁴¹⁴. Ces paramètres sont fortement altérés chez les patients malades chroniques et ne cessent de se dégrader avec l'avancée en âge⁴⁴⁶. Les capacités de production de force sont ainsi fortement corrélées à la survie chez les patients malades chroniques³⁰⁴ (Figure 26).

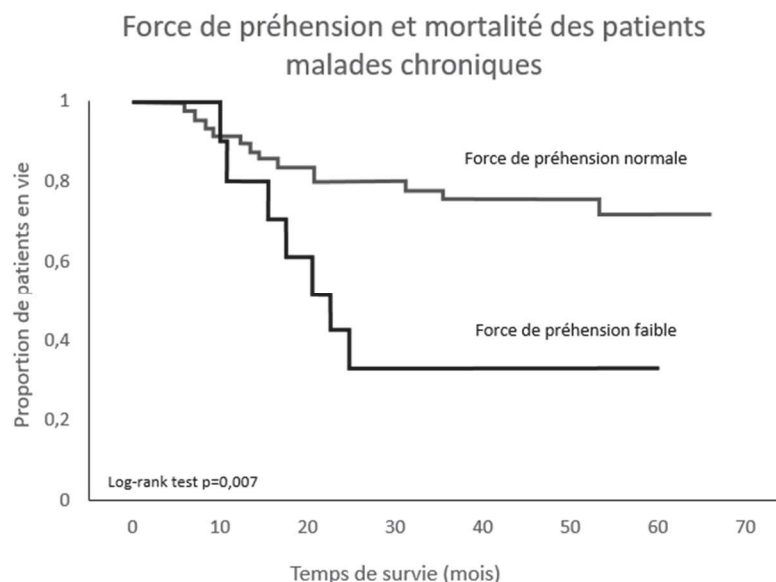


Figure 26 : Analyse de survie de Kaplan-Meier de patients malades chroniques en fonction de la force de préhension. D'après Orell et al., 2019

Dans la réalisation des tâches quotidiennes, le déconditionnement musculaire des patients malades chroniques peut représenter un réel handicap. Au fur et à mesure que la fonction physique se dégrade, les conséquences fonctionnelles et métaboliques de la dysfonction musculaire ne cessent de s'accroître et deviennent irréversibles, détériorant peu à peu la qualité de vie⁷². Les conséquences sur l'apparition de comorbidités sont conséquentes, avec un risque accru de développer des pathologies secondaires comme l'ostéoporose, la dyslipidémie et le syndrome métabolique⁴²⁷. L'avancée en âge et l'apparition de comorbidités mènent les malades chroniques vers la fragilité, concernant environ 20% des patients de plus de 70 ans. Le syndrome de fragilité est fortement corrélé au risque de chute, de fractures, à la survenue d'évènements invalidants, à la fréquence d'hospitalisation et à la mortalité, avec une évolution certaine vers la dépendance²⁸².

RESUME DU CHAPITRE I

- Le muscle strié squelettique présente une structure et un fonctionnement complexes. Les **unités contractiles** organisées dans les **myofibrilles** se **contractent** sous l'impulsion d'une **commande motrice** volontaire.
- La principale fonction du tissu musculaire est ainsi de permettre la **mise en mouvement** des segments de l'organisme. D'autres fonctions lui sont attribuables, comme le maintien de la **posture** et la régulation du **métabolisme**.
- Le muscle strié squelettique est un tissu particulièrement **adaptable** qui répond aux **contraintes** de son environnement. Face à l'augmentation de la charge mécanique lors d'un exercice physique chronique, le muscle se **remodèle** et ses **performances** augmentent.
- Ces adaptations sont **spécifiques** du **mode de contraction** (concentrique, isométrique, excentrique) et du **type d'entraînement** (résistance, endurance, combiné). Elles diffèrent aussi en fonction de l'âge, du genre et de facteurs génétiques.
- De par sa **propriété plastique**, le muscle strié squelettique s'adapte aussi bien à une élévation du niveau de contraintes qu'à la diminution de celui-ci. Ainsi, lors de **l'avancée en âge**, le muscle **perd** naturellement **de sa force** et de sa masse.
- Ce **déconditionnement** musculaire peut aussi être le résultat chez l'adulte d'une diminution des activités physiques. La société étant de plus en plus **sédentaire**, le manque d'activité physique favorise un **remodelage délétère** du tissu musculaire.
- Dans le cadre de **pathologies chroniques**, la dysfonction musculaire et le déconditionnement physique forment un **cercle vicieux** pouvant dangereusement aggraver l'état de santé et mener à une **dépendance** et une **mortalité précoces**.

CHAPITRE II : DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE DU PATIENT HEMODIALYSE

La dysfonction musculaire dans le cadre des pathologies chroniques est ainsi multifactorielle et souvent sévère¹¹⁷. On retrouve cette détérioration précoce du tissu musculaire dans un contexte de maladie chronique comme le SIDA (Syndrome de l'immunodéficience acquise), le cancer, la BPCO (broncho-pneumopathie chronique obstructive) ou le diabète mais également dans le cadre de l'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT).

1. L'insuffisance rénale chronique terminale

1.1. Rôles fonctionnels des reins dans l'organisme

Dans l'organisme, les reins ont pour fonction principale l'excrétion des fluides corporels en excès et l'épuration des déchets métaboliques de la circulation sanguine en vue de leur élimination au travers de l'urine (Figure 27). Les néphrons, unités fonctionnelles du rein, ont la capacité de filtrer le sang artériel et de le débarrasser des éléments devenant toxiques lorsqu'ils s'y accumulent. Une partie est alors réabsorbée et passe dans la circulation veineuse. Les fluides en excès, ainsi que les déchets métaboliques, sont dirigés vers les uretères avant leur excrétion. Ce fonctionnement permet d'assurer la régulation du volume, du pH et des ions sanguins.

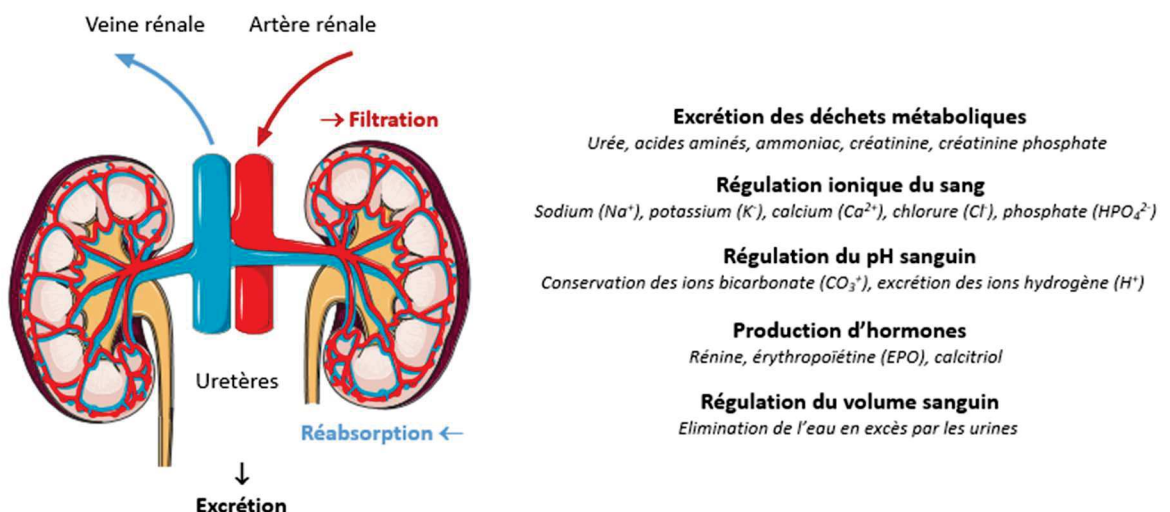


Figure 27 : Fonctions des reins dans l'organisme

Outre leurs fonctions de filtration et de régulation, les reins possèdent une fonction sécrétoire de plusieurs hormones dont la rénine, permettant la synthèse d'angiotensine et formant avec l'aldostérone un des systèmes majeurs de la régulation de la tension artérielle et du volume sanguin. La sécrétion d'érythropoïétine (EPO), facteur de croissance spécifique des érythrocytes, est également principalement assurée par le système rénal et permet la production de globules rouges par la moelle osseuse. Enfin, le calcitriol, forme hormonale active de la vitamine D, a une action hypercalcémiant et hyperphosphatémiant, permettant la minéralisation osseuse.

1.2. Physiopathologie de l'insuffisance rénale chronique

a. Définition

L'insuffisance rénale chronique se traduit par une perte lente et progressive de la fonction rénale, progressant d'un stade 1, asymptomatique, jusqu'au stade 5, qui constitue l'insuffisance rénale terminale. C'est le débit de filtration glomérulaire (DFG), estimant la capacité fonctionnelle de filtration des néphrons, qui est utilisé comme premier critère diagnostique (Figure 28). Les valeurs normales de DFG se situent entre 90 et 120 mL.min⁻¹, selon l'âge, le sexe, le poids et l'origine ethnique de l'individu. On parle d'insuffisance rénale lorsque le taux de filtration glomérulaire est inférieur à 90 mL.min⁻¹ et qu'il s'accompagne d'une accumulation d'urée et de créatinine dans le sang.

		DFG mL/min/1,73m ²
Maladie rénale chronique avec DFG normal ou légèrement diminué	Stade 1	≥ 90
	Stade 2	60-89
IRC modérée	Stade 3	30-59
IRC sévère	Stade 4	15-29
IRC terminale	Stade 5	< 15

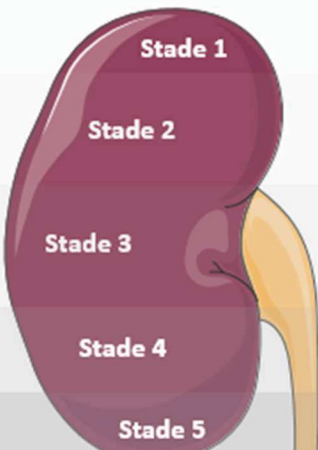


Figure 28 : Evolution de l'insuffisance rénale chronique d'après la Haute Autorité de Santé, 2012

Au stade terminal, le fonctionnement des deux reins est trop altéré et les fluides chargés de déchets métaboliques s'accumulent dans l'organisme, perturbant l'homéostasie cellulaire. La survie du patient nécessite alors un traitement de suppléance ou une greffe d'organe.

b. Prévalence

L'insuffisance rénale chronique touchait en 2016 environ 500 millions de personnes dans le monde et sa prévalence est en constante augmentation. En 2019, on estimait entre 5 et 7 millions le nombre de personnes présentant le stade terminal de la maladie et nécessitant un traitement de suppléance²⁴⁷. Afin de pallier aux reins défaillants, le patient peut être placé sous hémodialyse (HD), filtrant le sang au travers d'une membrane et éliminant les fluides en excès ainsi que les déchets métaboliques (Figure 29).

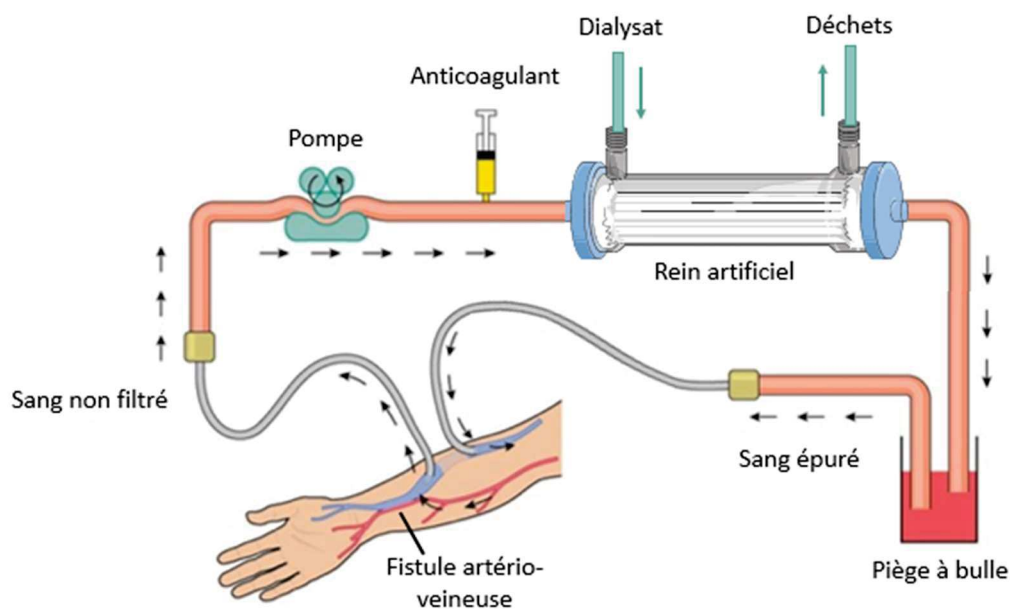


Figure 29 : Épuration sanguine par hémodialyse

En France, plus de 40 000 patients sont dialysés régulièrement et chaque année, ce sont plus de 10 000 personnes qui commencent un traitement de dialyse¹⁶⁶. L'âge moyen en France d'induction de l'hémodialyse était, en 2017, estimé aux alentours de 63 ans. Les hommes sont d'ailleurs plus touchés que les femmes par l'IRCT, avec un sex-ratio homme femme en dialyse estimé à 1,9 en 2017^{343,455}.

c. Mortalité

Dans près de la moitié des cas, l'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) est consécutive d'une pathologie primaire comme l'hypertension (néphropathie hypertensive) ou le diabète (néphropathie diabétique). La présence de plusieurs pathologies chez le même patient explique en partie la mortalité élevée de cette population. En 2017, plus de 10% des patients greffés ou dialysés sont décédés des suites de la maladie chronique. La même année, le taux de survie des patients était estimé à environ 84% la première année de traitement et chutait à seulement 32% après 10 ans de suivi^{196,343}. Des comorbidités à la fois cardiaques (cardiopathies valvulaires, insuffisance cardiaque, infarctus du myocarde,...) et vasculaires (accidents vasculaires cérébraux, artérite des membres inférieurs,...) sont fréquemment associées à l'IRCT et la mortalité est majoritairement d'origine cardiovasculaire²⁹⁵.

Les patients atteints d'une IRCT et traités par hémodialyse présentent un déconditionnement musculaire important d'apparition progressive⁴¹⁶. Cette composante de la maladie chronique est encore sous-estimée, alors que le déclin des aptitudes fonctionnelles altère à la fois la qualité de vie et le pronostic des patients⁴⁶¹. Le pronostic à moyen terme des patients sous hémodialyse étant très défavorable, la compréhension de l'origine de cette dysfonction musculaire associée à l'IRCT est primordiale.

1.3. Causes du déconditionnement musculaire du patient hémodialysé

L'atteinte musculaire chez le patient hémodialysé se caractérise par une altération de la quantité et de la qualité du tissu musculaire. La dysfonction musculaire du patient hémodialysé a d'abord été décrite comme une conséquence de l'IRCT sous le nom de myopathie urémique, qui concernerait près de la moitié des patients sous hémodialyse. Le degré de cette dysfonction musculaire s'aggrave avec l'évolution de la maladie rénale chronique et sa prévalence augmente dès les premiers stades, jusqu'au stade terminal où 1 patient dialysé sur 2 est concerné²⁰⁰.

a. Dénutrition

L'International Society of Renal Nutrition and Metabolism (ISRNM) recommande l'utilisation du terme de "Protein–Energy Wasting" (PEW) pour décrire le statut de dénutrition particulier du patient hémodialysé, et a élaboré une liste de critères utiles à son diagnostic²⁵¹. Le syndrome de PEW, très fréquent chez le patient hémodialysé se caractérise par une perte de poids (Figure 30), une réduction de la masse musculaire ainsi qu'une réduction des marqueurs biologiques nutritionnels¹⁴⁴.

La réduction des apports alimentaires liée aux contraintes diététiques et les désordres métaboliques induits par l'accumulation d'urée sont les deux principales causes de la dénutrition du patient dialysé. Le traitement par dialyse entraîne aussi une déperdition des nutriments, et l'IRCT est à l'origine d'un hypercatabolisme affectant le renouvellement des protéines nécessaires au maintien de la masse et de la force musculaire. Si le remodelage musculaire du patient dialysé est multifactoriel, il résulte en partie de ce déséquilibre entre les processus de dégradation et de synthèse protéique.

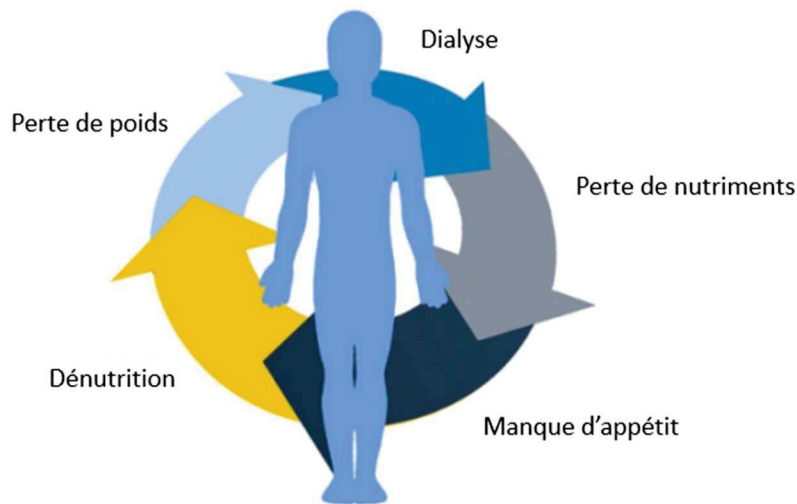


Figure 30 : Dénutrition et phénomène de "Protein Energy Wasting" chez le patient dialysé

b. Inflammation

La plupart des maladies chroniques génèrent une inflammation persistante au niveau systémique. Les patients souffrant d'insuffisance rénale chronique (IRC) présentent souvent un tableau inflammatoire connu pour favoriser la dégradation du muscle et de ses fonctions⁹². Les mécanismes sous-jacents de l'inflammation chronique dans le cadre de l'IRC ne sont pas encore élucidés, mais semblent liés à la présence de toxines urémiques et à la production de cytokines pro-inflammatoires⁹². L'IRC est aussi fréquemment associée à de nombreuses comorbidités telles que le diabète ou l'insuffisance cardiaque connues pour leurs effets pro-inflammatoires au niveau systémique. L'insuffisance rénale empêche l'élimination de ces molécules inflammatoires mais altère également la régulation de cette inflammation chronique et des voies du stress oxydant³⁸⁶. Ces éléments sont connus pour être particulièrement délétères pour le tissu musculaire.

c. Sédentarité

Il existe ainsi une dysfonction musculaire primaire associée à la maladie qui est amplifiée par le manque d'activité. L'hémodialyse dure généralement entre 3 et 5h et doit être répétée 2 à 3 fois par semaine. Un jour sur deux en moyenne, une demi-journée complète est consacrée au traitement de suppléance. Les patients sont alors bloqués et maintenus inactifs pendant le traitement, en position assise (Figure 31) ou alitée, la plupart des patients restant couchés pendant toute la procédure. Pour la majorité des patients, la durée de la procédure d'hémodialyse est de 4 heures, auxquelles s'ajoutent le temps de transport, de branchement et de débranchement. Le temps total d'inactivité lié au traitement par hémodialyse dépasse ainsi les 15 heures hebdomadaires. Sur une année, cela représente entre 600 et 1000 heures d'inactivité, soit 4 à 6 semaines³⁵².

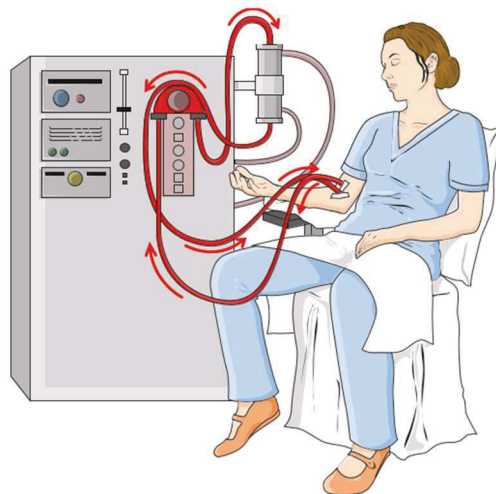


Figure 31 : Immobilité pendant le traitement par hémodialyse

La limitation de l'activité physique, ou hypokinésie, est observée chez plus de 70% des patients dialysés et est un des facteurs principaux du déconditionnement de ceux-ci. Les patients en hémodialyse sont considérés comme sédentaires selon l'OMS, présentant un niveau d'activité quotidienne très faible, avec moins de 5 000 pas par jour⁷⁴. L'IRCT est fréquemment associée à des comorbidités (diabète, hypertension, cardiopathies...), contribuant, en plus de la maladie et de son traitement lourd, à de très faibles niveaux d'activité physique.

d. Anémie

L'insuffisance rénale chronique est à l'origine de troubles sécrétoires entraînant un déficit en érythropoïétine (EPO), hormone activant la synthèse de nouveaux globules rouges. Les patients

présentent dans la majorité des cas un déficit en globules rouges, aussi appelé anémie. Les patients dialysés ont donc une capacité de transport de l'oxygène fortement diminuée, donc une fatigabilité musculaire plus importante, une baisse des performances ainsi qu'une diminution de la consommation maximale d'oxygène. L'anémie s'accompagne ainsi d'adaptations métaboliques à un apport en oxygène moindre qui impacte négativement la tolérance à l'effort. L'apport réduit en oxygène de la mitochondrie est la cause d'un métabolisme énergétique aérobie insuffisant. En conséquence, lors d'un effort physique, une ventilation pulmonaire suivie d'un essoufflement est souvent remarquée chez les patients dialysés. Une baisse de 50% de la capacité fonctionnelle due à l'anémie a été mise en évidence après la dialyse⁴²¹.

Sur le long terme, le traitement de dialyse occasionne des altérations du métabolisme oxydatif. Les seuils ventilatoires et la consommation maximale d'oxygène (VO_{2max}) sont réduits chez le patient dialysé, engendrant une acidose métabolique précoce à l'exercice. Une étude menée par Sietsema et al. portant sur 193 patients montre une VO_{2max} estimée à 18,5 mL/min/kg en moyenne chez le patient dialysé, valeur largement inférieure à la moyenne d'une population saine et au seuil des principales activités quotidiennes (30 à 60 mL/min/kg). Cette étude montre également qu'une VO_{2max} inférieure à 17,5 mL/min/kg est associée à une surmortalité³⁹⁷. La majorité des patients sont traités par EPO injectable à chaque traitement de dialyse pour pallier à l'anémie, mais leur taux de globules rouges demeure la plupart du temps inférieur à la norme, limitant la pratique d'efforts longs ou intenses¹¹⁵.

e. *Fatigue*

La sensation de fatigue constitue au fur et à mesure le premier facteur limitant de l'activité physique chez les patients dialysés. Définie comme un manque général d'énergie, elle concerne 60% à 97% des patients sous dialyse, 3 fois plus que sa prévalence chez une population saine¹⁷³. La fatigue des patients dialysés est d'une part due à des facteurs physiologiques comme l'anémie, les troubles métaboliques et du sommeil ; et d'autre part à des facteurs psychologiques comme la dépression et le stress. Le facteur le plus déterminant du niveau de fatigue reste le niveau d'activité journalier, à l'origine d'un cercle vicieux : la fatigue constitue le premier obstacle à l'activité physique, et le manque d'activité physique entraîne une sensation de fatigue plus importante et plus précoce lors du moindre effort.

f. *Neuropathies*

L'insuffisance rénale chronique est responsable de complications neurologiques principalement liées à l'état urémique des patients. L'excès d'urée, très toxique pour l'organisme, se traduit par des anomalies nerveuses comme la dégénérescence axiale et la démyélinisation des fibres. Ces complications sont très fréquentes puisqu'elles concernent plus de 60% des patients atteints d'IRC et

plus de 87% des patients dialysés⁷⁴. L'apparition des polyneuropathies urémiques est cependant très tardive dans la maladie rénale chronique : les symptômes d'atteinte nerveuse semblent corrélés avec un débit de filtration glomérulaire inférieur à 12 mL/min/1,73m², correspondant à une destruction de 75% des néphrons fonctionnels. Les symptômes semblent par ailleurs être stabilisés pendant la dialyse³⁴⁷.

1.4. Physiologie du remodelage musculaire du patient hémodialysé

Les symptômes de cette atteinte musculaire et les mécanismes sous-jacents présentent certaines similitudes avec le déconditionnement musculaire observé lors du vieillissement, amenant à remplacer le terme de myopathie urémique par celui de sarcopénie urémique¹¹⁸. Cependant, certaines particularités de la dysfonction musculaire du patient hémodialysé ont été décrites dans la littérature.

a. *Modifications structurales et morphologiques*

L'analyse des modifications structurales chez le patient hémodialysé requiert l'analyse morphométrique et histologique de biopsies musculaires. Peu d'études ont évalué ces paramètres et leurs résultats sont parfois contradictoires. Si une atrophie des fibres rapides est généralement décrite³⁷⁶, d'autres études ont cependant rapporté que les fibres lentes étaient les plus touchées par l'atrophie musculaire chez les patients insuffisants rénaux^{83,119,192,361}. Dans ces dernières, la proportion relative de fibres de type II est augmentée en dépit de l'atrophie musculaire présente.

La plus récente étude, conduite par Lewis et al., reporte une augmentation de la proportion de fibres de type I au détriment des fibres de type II, avec une augmentation de la surface de section quelle que soit la typologie des fibres²³⁷. Une réduction de la surface des fibres de type II est pourtant cohérente avec le déficit de production de force et le mode de vie sédentaire des patients hémodialysés, mais reste pour l'heure difficile à établir. La détermination de la surface de section des fibres se heurte à des difficultés méthodologiques qui pourraient expliquer l'incohérence des résultats établis jusqu'ici. Premièrement, le petit nombre d'études contrôlées limite la comparaison des données des patients à une population saine présentant le même niveau d'activité physique. Ensuite, l'évaluation de la surface de section des fibres dépend largement de la qualité des biopsies et de leur analyse. L'orientation des fibres lors de la congélation de l'échantillon, la découpe transversale des sections, la qualité du marquage histologique et la méthode de calcul sont déterminants de la justesse d'évaluation de la surface de section. De plus, chez les patients atteints d'IRC, l'hyperhydratation et la présence d'œdèmes peuvent induire une augmentation de la surface de section des fibres et masquer la présence d'une atrophie²³⁷.

La réduction progressive du nombre de fibres musculaires est en partie expliquée par une perte de l'innervation des unités motrices et liée au développement des neuropathies consécutives de l'IRCT^{326,347}. Un découplage entre excitation et contraction musculaire apparaît, avec un ralentissement de la vitesse de conduction et de la contraction. L'atteinte neurologique est responsable de la réduction du nombre d'unités motrices opérationnelles et participe ainsi à la perte de masse mais aussi à la perte de force musculaire. D'autres éléments comme la présence d'amas de fibres de type II et la réduction localisée de la surface des fibres suggèrent aussi une altération de la jonction neuromusculaire⁷.

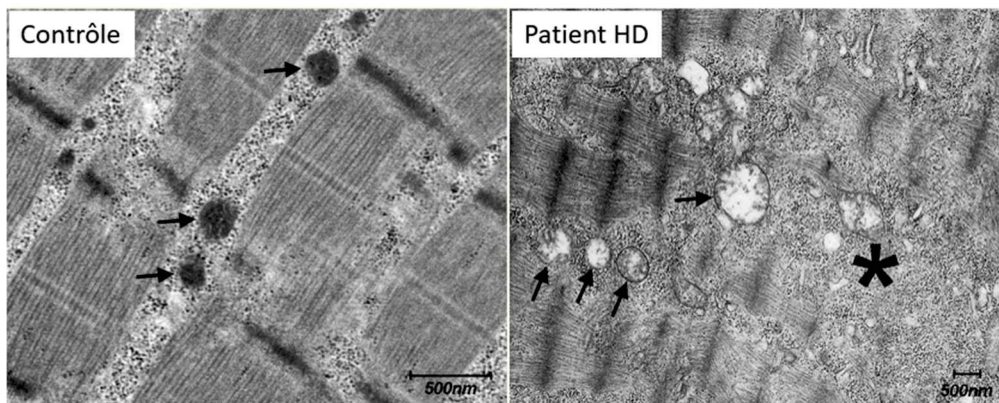


Figure 32 : Ultrastructure du vaste latéral d'un sujet sain et d'un patient hémodialysé. Des amas de mitochondries d'apparence enflée (flèches) et une zone de disruption de la strie Z (*) sont visibles chez le patient hémodialysé. En considérant la différence d'échelle des deux images, les mitochondries chez le sujet sain (flèches) sont de taille similaire au patient hémodialysé alors qu'elles sont observées à un grossissement 3 fois plus grand. D'après Lewis et al., 2012

La diminution de la densité capillaire, soit le nombre de vaisseaux capillaires par unité de surface de matériel contractile, a été observée chez le patient hémodialysé^{237,361}. Cette diminution peut atteindre plus de 30%²³⁷. Une plus faible conductance de l'oxygène a aussi été mise en évidence dans les muscles des patients présentant une insuffisance rénale chronique³⁶³. Le diabète est aussi associé à une altération de l'apport en oxygène au cours de l'exercice⁴²⁰. Face à une augmentation de la demande générée par l'effort, il semble que l'apport musculaire en oxygène et en nutriments soit limité à la fois par le réseau capillaire insuffisant et par une moins bonne diffusion de l'oxygène à l'intérieur du tissu.

D'autres anomalies structurales du muscle strié squelettique des patients présentant une IRC visibles en microscopie électronique ont été rapportées, comme une réduction du contenu en glycogène, une dégénérescence des myofibrilles, une désorganisation des sarcomères voire une rupture des stries Z (Figure 32). Des anomalies mitochondriales marquées ont également été décrites, avec la présence de mitochondries dilatées, isolées et dispersées les unes par rapport aux autres²³⁷. Ces anomalies

semblent cohérentes avec la raréfaction capillaire et la diminution de l'apport en oxygène du tissu musculaire des patients hémodialysés.

b. *Perturbations métaboliques*

La mise en évidence de modifications structurales chez le patient hémodialysé ne suffit pas à caractériser pleinement la dysfonction musculaire. D'autres méthodes comme l'évaluation de l'activité de certaines enzymes permettent l'analyse plus poussée de la physiologie musculaire du patient atteint d'IRCT. Plusieurs études démontrent des altérations particulières du métabolisme oxydatif et de la fonction mitochondriale, mais d'autres ne supportent pas ces observations.

L'activité de la citrate synthase et d'autres enzymes oxydatives a été montrée comme inchangée voire augmentée dans deux études menées chez le patient souffrant d'IRC^{275,317}. Cependant, la population analysée était plutôt jeune. A l'inverse, dans une autre étude, l'activité de la citrate synthase et de la cytochrome c oxydase était diminuée chez le patient IRC par rapport à des sujets sains²³⁷. Dans cette même étude, l'activité de la succinate déshydrogénase était réduite chez un grand nombre de patients hémodialysés en comparaison à une population contrôle. L'IRCT est associée à des mutations de l'ADN (acide désoxyribonucléique) mitochondrial ainsi qu'à une altération des protéines mitochondriales^{237,242}. Ces protéines ont un rôle majeur dans la chaîne de transport des électrons et donc dans la synthèse d'ATP en condition aérobie⁶. Plusieurs études ont mesuré ce flux mitochondrial de production d'ATP chez le patient dialysé ou souffrant d'IRCT, qui atteignait entre 44 et 77% des valeurs contrôles pendant l'épreuve incrémentale, indiquant une diminution des capacités de synthèse d'ATP en lien avec l'IRCT³⁷⁶.

L'état inflammatoire chronique et le phénomène de PEW observés chez ces patients semblent être liés à la diminution de l'activité mitochondriale et au déficit de renouvellement de ces organites cellulaires. La régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène est principalement assurée par la mitochondrie et semble détenir un rôle clé dans la détérioration du métabolisme musculaire des patients hémodialysés. Le stress oxydant est également impliqué dans la progression des lésions rénales, la pathogenèse de l'athérosclérose et l'exacerbation des symptômes associés à la maladie rénale²⁴³. Des facteurs associés à l'urémie et à la dialyse contribuent à la génération d'un stress oxydant et à un état pro-inflammatoire, tout comme l'exposition à des endotoxines contenues dans le dialysat²⁴³. La biocompatibilité des membranes utilisées pour l'hémodialyse est aussi responsable d'un stress oxydant dans le muscle squelettique³³⁵ qui est induit par la production accrue de ROS pouvant entraîner des lésions de l'ADN, des protéines et des lipides^{133,242,283}.

c. Conséquences fonctionnelles de la dysfonction musculaire

La baisse du niveau d'activité physique se traduit par des troubles fonctionnels du système moteur (douleurs articulaires, musculaires, tendineuses..) associés à une mobilité articulaire limitée, des troubles de l'équilibre et de la coordination⁴²¹. L'inactivité engendre une perte de force, les comorbidités associées diminuent les capacités cardiovasculaires et l'ensemble impacte la qualité de vie, créant un cercle vicieux de déconditionnement du patient hémodialysé⁴²¹. L'importance du phénomène de PEW est en lien avec le niveau de survie des patients atteints d'IRCT ainsi qu'avec la baisse de leur qualité de vie et de leur autonomie^{95,397}. Ce phénomène d'appauvrissement protéique global se traduit en premier par une perte de masse musculaire qui peut favoriser la dépendance et accroître le risque de chute ; mais aussi s'accompagner d'infiltrations graisseuses favorisant l'insulinorésistance voire le développement d'un syndrome métabolique et de ses conséquences²⁵¹.

La tolérance à l'effort des patients dialysés baisse au fur et à mesure que la maladie progresse, sans qu'il n'y ait d'influence de la pathophysiologie de l'atteinte rénale⁴⁶⁴. Les patients présentant une IRC ont une consommation maximale d'oxygène réduite de 50% comparé à une population sédentaire⁴³⁷. Les patients longtemps dialysés présentent aussi des pathologies vasculaires, des complications cérébrovasculaires, une immunodéficience ou encore des infections qui ont un réel impact sur la condition physique et la capacité fonctionnelle des patients dialysés. D'une manière générale, on estime que les puissances maximales d'exercice chez les patients dialysés ne dépassent pas 51% de la valeur établie pour une population saine. L'intolérance à l'effort des patients dialysés qui en résulte se traduit à la fois par la diminution des capacités de production de force et de l'altération de la résistance à la fatigue du système musculaire.

La capacité fonctionnelle des patients dialysés avant 30 ans s'élève ainsi à 75% de la norme pour la population sédentaire, entre 30 et 60 ans à seulement 57% et après 60 ans, cette valeur descend en dessous de 40%³⁵². Une étude menée par Gutman et al. en 1981 consistait en une évaluation du niveau d'activité physique et de l'indépendance de 2191 patients sous dialyse¹⁴⁹. Seuls 60% d'entre eux étaient complètement ou partiellement indépendants de l'aide d'autrui, 20% étaient indépendants uniquement dans le cadre du domicile et 20% d'entre eux étaient totalement dépendants d'une aide extérieure. Chez les patients hémodialysés, le risque de chute a été montré comme supérieur à celui d'une population de même âge^{79,96,113,240} et la fréquence des fractures de la hanche est aussi 4 fois plus élevée que dans une population sédentaire¹⁹⁷. En considérant l'évolution de la sédentarité dans la société aux cours de ces 40 dernières années, il est fort probable que ces chiffres soient encore davantage préoccupants à l'heure actuelle.

2. Dépistage du déconditionnement musculaire du patient hémodialysé

L'importance du déconditionnement musculaire du patient hémodialysé est souvent sous-évalué et il n'existe pas vraiment de consensus pour l'évaluer de façon systématique et standardisée. La majorité des manifestations du déconditionnement étant peu spécifiques, l'examen clinique ne parvient pas toujours à déceler d'anomalie fonctionnelle traduisant une dysfonction musculaire. Comme lors de l'évaluation de la sarcopénie, le dépistage du déconditionnement chez le patient hémodialysé inclut l'évaluation de la masse musculaire.

2.1. Evaluation de la masse musculaire

Comme chez les personnes âgées, la méthode de référence pour l'évaluation de la composition corporelle totale est l'absorptiométrie biphotonique (DXA)³⁹². Si la DXA permet de mesurer quantitativement les différents compartiments corporels, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet de caractériser précisément la masse musculaire¹⁹² (Figure 33) indépendamment de la présence d'œdème, de fibrose et d'infiltrats graisseux souvent rencontrée chez le patient hémodialysé¹⁶³.

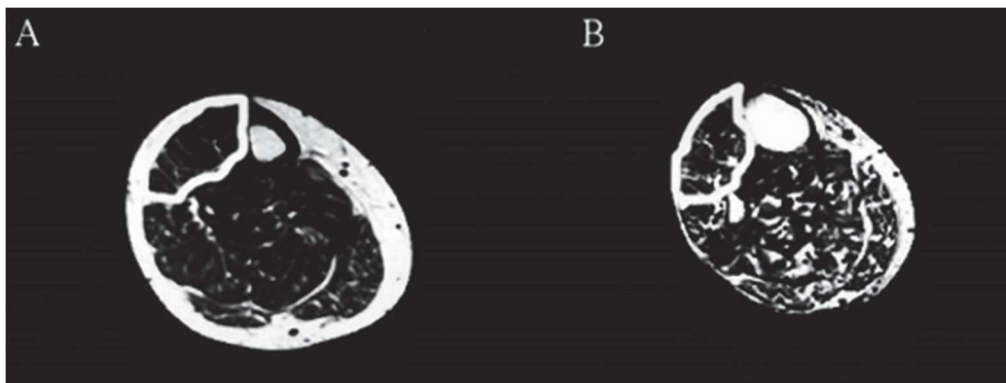


Figure 33 : Imagerie par résonance magnétique de la cuisse (A) d'une femme de 72 ans en bonne santé et (B) d'une patiente de 70 ans traitée par hémodialyse. Les zones contractiles apparaissent noires tandis que la graisse et l'os apparaissent blancs. En plus d'une réduction de surface du muscle, le muscle de la patiente sous dialyse est caractérisé par la présence de matériel non contractile. D'après Johansen et al., 2003

L'impédancemétrie peut être réalisée rapidement et à faible coût. Elle permet d'estimer la composition corporelle en masse grasse et en masse maigre, mais la mesure est très dépendante de l'état d'hydratation des sujets²⁴⁸. Chez le patient dialysé, l'échographie musculaire peut aussi être envisagée afin d'évaluer la composition des tissus et notamment différencier les tissus adipeux des tissus musculaires⁴¹³. Si l'acquisition des images requiert une certaine adresse de la part de

l'expérimentateur, l'échographie permet d'analyser la qualité du tissu musculaire en distinguant les zones hyperéchogènes, l'angle de pennation, l'épaisseur du muscle et la surface de section.

Il est aussi possible d'estimer indirectement la masse musculaire du patient hémodialysé par la mesure de la créatininurie sur 24 heures. Pour rappel, la créatinine est un déchet métabolique produit par le tissu musculaire et exclusivement éliminé par le rein. En tenant compte de la diurèse résiduelle, le dosage de la créatinine entre deux séances de dialyse permet d'estimer la masse musculaire *via* l'index de créatinine⁵⁸. A la différence des mesures directes, l'index de créatinine est plus sensible à la dénutrition et peut facilement être utilisé en routine⁵⁸. La mesure peut toutefois être influencée par d'autres paramètres que la masse musculaire et la présence d'une fonction rénale résiduelle et ne pas correspondre aux résultats obtenus par d'autres méthodes comme l'impédancemétrie⁵⁸.

2.2. Evaluation de la force musculaire

L'évaluation de la masse musculaire fait depuis toujours partie des paramètres évalués en routine clinique chez le patient en HD, mais la mesure de la force demeure négligée²⁶⁰. La perte en masse musculaire (sarcopénie) ne traduit pas de manière proportionnelle le déficit de production de force (dynapénie) et survient même après la diminution des capacités fonctionnelles¹⁸². Si la masse musculaire est un facteur prédicteur de survie, la force musculaire, plus représentative des capacités individuelles, est un marqueur puissant de l'indépendance fonctionnelle et de la qualité de vie^{68,137,192}.

Parmi les mesures de la force musculaire, l'évaluation de la force maximale de préhension ou handgrip (Figure 34) des membres supérieurs est rapide et reproductible²⁹⁶. L'évaluation peut se faire sur les deux bras en dehors de la dialyse et seulement sur le bras non-fistulé lorsque le patient est branché. Néanmoins, la force maximale de préhension diminue au décours de la procédure d'hémodialyse, nécessitant la standardisation de la mesure pour des études longitudinales ou comparatives³⁰². Aucun consensus n'a jusqu'ici été établi quant à la position à adopter pour réaliser la mesure. La force maximale des fléchisseurs des doigts peut être atteinte lorsque la longueur du muscle est optimale, impliquant la flexion du coude aux environs de 100°. On retrouve cependant des mesures effectuées en flexion à 90° ou encore en extension du bras, compliquant la comparaison des études entre elles⁷¹.

La force maximale de préhension est corrélée à la force des membres inférieurs⁴⁵¹, mais elle ne constitue cependant pas une mesure directe des capacités de production de force des jambes, cliniquement plus représentatives du déconditionnement musculaire. La mesure de la force maximale isométrique volontaire (FMV) du quadriceps, groupe musculaire majeur des membres inférieurs, fait partie des dernières recommandations internationales⁸⁵. Elle nécessite des appareils de mesure dynamométriques ou encore des bancs de force, moins accessibles en routine clinique⁴⁰⁵. Cette

mesure est particulièrement intéressante de par sa précision, sa reproductibilité et son adéquation avec les capacités réelles du patient. Il est possible avec les mêmes outils de mesure de force de déterminer l'endurance musculaire des membres supérieurs et inférieurs. Le test d'endurance musculaire évalue la durée maximale de contraction du patient à 30% de sa force maximale¹⁸⁴.

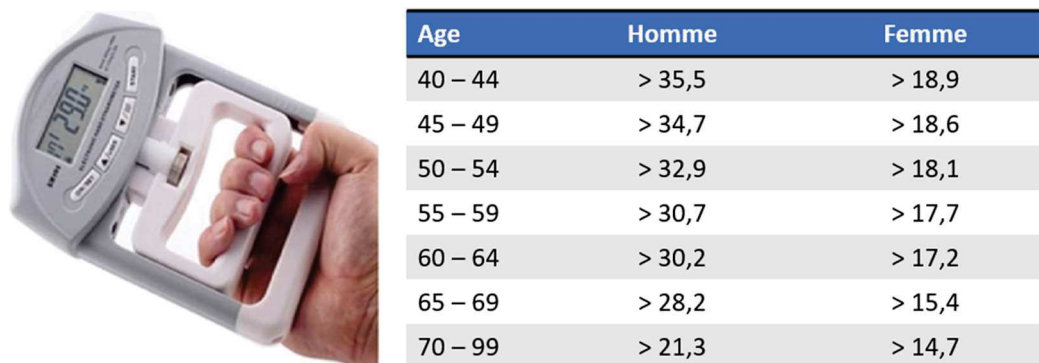


Figure 34 : Valeurs de force de préhension (en kg) de référence en fonction de l'âge et du genre. D'après Gaikwad et al., 2016

2.3. Evaluation des capacités fonctionnelles

L'évaluation des capacités fonctionnelles précise la description clinique du patient. Les outils et démarches utilisés sont complémentaires et le choix d'un test ou d'un autre dépend de l'objectif fixé. Cette évaluation, pour être la plus complète possible, se doit d'aborder les différents aspects liés au mouvement. La motricité est un terme englobant les paramètres nécessaires à la mise en mouvement de l'organisme : la force, la vitesse, l'endurance, l'équilibre, la coordination. Les différents tests cités ci-après sont adaptés à l'évaluation du déconditionnement et donc des capacités fonctionnelles des patients dialysés.

a. Tolérance à l'effort

L'épreuve d'effort maximal à charge croissante est réalisée sur bicyclette ergométrique. Le but de ce test est de rechercher les limitations et les contre-indications cardio-respiratoires à l'exercice. On mesure ainsi chez les patients dialysés la consommation maximale en oxygène ou VO_{2max} (Figure 35). Un test d'endurance peut compléter l'épreuve d'effort maximale. Le test permet d'évaluer combien de temps le patient arrive à maintenir son effort à une charge correspondant à 70% de sa puissance maximale théorique²⁰³.



Figure 35 : Niveau de la consommation maximale en oxygène (VO_{2max}) chez les patients hémodialysés (Δ) en comparaison à des hommes et femmes sédentaires ne présentant pas de pathologie. D'après Painter, 2008

b. Vitesse de marche

Le test de marche de 6 minutes est l'un des plus utilisés pour évaluer les capacités fonctionnelles d'un patient quelle que soit sa pathologie. Il consiste à mesurer la distance la plus longue parcourue en marchant sur une surface plane pendant 6 minutes. L'expression des résultats se fait suivant un pourcentage de la valeur théorique, qui dépend de l'âge, du sexe et de la taille. Une table de valeurs de référence a été dressée en fonction de ces paramètres⁶⁵.

Le test de marche de 6 minutes (6' walking test) est adapté à une condition physique diminuée, comme dans le cas de l'IRC, puisqu'il se situe à un niveau sous-maximal correspondant aux activités de la vie quotidienne. Il est appliqué par ailleurs dans le suivi régulier des patients, pratiquant ou non un programme d'activité physique, permettant de juger de l'efficacité de celui-ci ou simplement de suivre l'évolution de la capacité fonctionnelle dans un état pathologique.

Le test de la vitesse spontanée de marche est un autre test standardisé, simple et présentant peu de risques pour le patient. La vitesse de marche est un aspect important de la vie quotidienne qui est utilisée en clinique et en recherche comme une mesure objective de la mobilité fonctionnelle. De plus, elle est un facteur clé dans l'évaluation du besoin de réadaptation, des risques de chute et de la prédiction d'un déclin fonctionnel^{5,146}. Ainsi, un déclin de la vitesse de marche entraîne des conséquences telles que l'hospitalisation, la perte d'autonomie et la mortalité^{5,393}.

La vitesse de marche représente une mesure pratique permettant d'évaluer la capacité fonctionnelle d'un individu. Le test de marche de 10 mètres (TM-10) est la mesure la plus utilisée pour évaluer la

vitesse spontanée de marche. La vitesse est suivie par chronomètre sur un parcours réduit, pendant lequel le patient marche régulièrement à son rythme habituel. En général, les patients dialysés atteignent 66% des valeurs attendues pour ce test³⁶.

c. *Sit-and-Stand test*

Le test du assis-debout a pour but d'évaluer la fonction des membres inférieurs. Sur un laps de temps court (30 secondes), le patient doit se lever de la chaise et s'y rasseoir autant de fois qu'il le peut. La chaise, placée contre un mur, n'est pas équipée d'accoudoir, et le patient ne doit pas s'aider de ses bras : le but est ici de se servir uniquement des membres inférieurs. Chaque lever complet est compté pendant les 30 secondes. Les résultats de ce test sont exprimés sous la forme d'un score correspondant au nombre de levers complets effectués. Il est compris entre 0, si aucun des mouvements n'est effectué, et généralement 20, pour les individus les plus sportifs. Les patients dialysés atteignent généralement un score inférieur à 25% des valeurs attendues³⁶.

d. *Tests d'équilibre*

L'équilibre est un autre déterminant de la condition physique. Une dégradation de cette faculté est à l'origine de troubles moteurs secondaires et de chutes. Deux types de tests d'équilibre sont pratiqués car complémentaires l'un de l'autre : les tests statiques et les tests dynamiques.

Le test statique d'équilibre sur une jambe dure moins de soixante secondes. Son but est de mesurer les aptitudes au contrôle de la posture lorsque le corps est en seul appui sur une surface réduite. Le patient choisit la jambe qui lui convient le mieux pour se tenir, chaussé, en équilibre unipodal et les yeux ouverts. La jambe opposée est remontée et pliée, de sorte que le talon vienne se placer sur la face interne du genou en appui. Le patient garde les bras décontractés le long du corps. Lorsqu'il se sent confortable et dans une bonne position, le chronomètre est déclenché, et sera arrêté au moment où le patient perd l'équilibre. Le résultat du test est exprimé en secondes.

Le test dynamique de la marche à reculons a pour but d'évaluer l'efficacité du contrôle postural en condition d'appui sur une surface réduite pendant le déplacement et sans utilisation de la fonction visuelle. Une ligne de six mètres, droite, est mise en place au sol. Le patient se place au bout de la ligne, retourné et regarde droit devant. Les pieds sont mis l'un derrière l'autre de sorte que le talon de la chaussure avant touche la pointe de la chaussure arrière. Le patient doit marcher à reculons dans cette disposition, le long de la ligne, sans baisser le regard. Il peut s'aider de ses bras pour s'équilibrer, sans qu'ils ne dépassent la hauteur des épaules²⁰³.

Le chronomètre est déclenché au moment du premier contact talon-pointe et est arrêté lorsque le patient atteint le bout de la ligne. Le patient dispose de trois essais sans erreur (sortie de ligne ou non-contact talon-pointe) pour effectuer le test. Le meilleur temps sera retenu pour réaliser la cotation. Si aucun essai n'est fructueux, la cotation appliquée sera de zéro.

e. *Timed-up and go*

Ce test a pour but d'évaluer l'efficacité des mécanismes de transfert entre la position assise et la station debout, de la marche et du changement de direction. Une chaise avec accoudoirs est placée à trois mètres d'un mur. Le patient est assis, doit se lever, puis marcher droit jusqu'au mur, y faire demi-tour sans le toucher avant de revenir vers la chaise, d'en faire le tour et de s'y rasseoir. Le chronomètre est déclenché au début du lever : la manœuvre ne doit pas durer plus de vingt secondes.

Le temps mesuré ne constitue pas le résultat du test mais seulement une composante. Le score final tient aussi compte des hésitations et trébuchements lors des transferts entre les positions assise et debout, de la marche et des changements de direction. La cotation est réalisée par l'examineur en fonction du risque de chute, 1 étant le niveau le plus faible. Un niveau supérieur ou égal à 3 traduit un risque important²⁰³.

f. *Short Physical Performance Battery*

Le SPPB (Short Physical Performance Battery) comprend 3 tests fonctionnels standardisés et donne un score sur 12 points. Les tests tiennent à la fois compte de l'équilibre, de la vitesse de marche, de la force et de l'endurance⁸⁵. La fragilité est diagnostiquée pour un SPPB ≤ 8 , et le risque de fragilité est présent pour des scores compris entre 9 et 11⁸⁵.

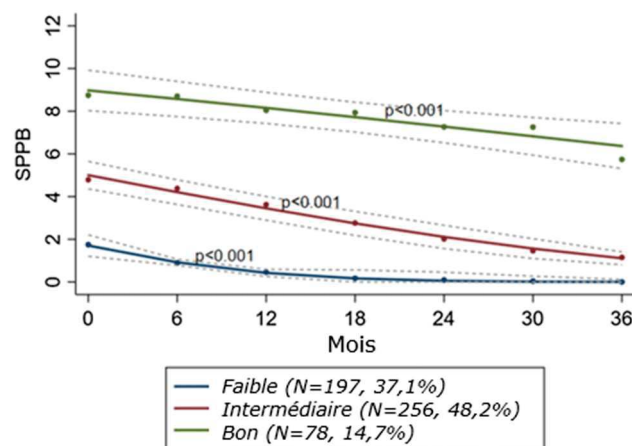


Figure 36 : Evolution avec intervalles de confiance (95%) du score au Short Physical Performance Battery en fonction du niveau de départ au cours d'un suivi de patients gériatriques sur 36 mois. D'après Sverdrup et al., 2020

Le SPPB apparait comme un test rapide, pratique et permet une évaluation simple de plusieurs composantes des capacités fonctionnelles. S'il est implémenté de façon courante en gériatrie⁴¹⁸ (Figure 36), son utilisation chez le patient hémodialysé reste négligée.

2.4. Evaluation du niveau d'activité physique et de la qualité de vie

a. Podomètres et accéléromètres

Le principe de la podométrie est de calculer le nombre de pas quotidiens en captant les mouvements de locomotion effectués par le patient. La marche est en effet l'activité physique la plus fréquente car la plus accessible pour les patients dialysés. En théorie, les recommandations fixent un « objectif-santé » de 10 000 pas par jour pour la population générale. L'outil est particulièrement accessible et simple, fréquemment utilisé pour motiver les patients à la pratique de l'activité physique : les objectifs définis sont des nombres de pas à atteindre au quotidien, facilement réalisables par des patients dialysés³¹⁴. Ces appareils sont peu coûteux, et des applications mobiles permettent aujourd'hui de réaliser les mesures directement sur téléphone portable. En revanche, le podomètre ne tient pas compte des notions de vitesse et d'intensité, d'où l'utilisation complémentaire d'accéléromètres.

L'accéléromètre détecte les activités de moyenne et de forte intensité, et son utilisation a été validée pour les patients dialysés¹⁹. L'outil comprend un accéléromètre sur deux axes, un capteur de température et de flux de chaleur à la surface de la peau : on peut ainsi estimer la dépense énergétique totale et la dépense liée à l'activité physique en fonction de son intensité. D'autres indications comme la durée d'activité et le temps de sommeil sont données par l'appareil. Contrairement au podomètre, la plupart des accéléromètres ne sont pas munis d'un affichage, et ne permettent donc pas au patient de suivre son activité quotidienne. L'appareil est aussi moins accessible du fait de son prix.

b. Questionnaires d'activités quotidiennes

Les questionnaires et les entretiens avec le patient sont les outils mis à disposition pour estimer ses activités quotidiennes et sa qualité de vie. Plusieurs auto-questionnaires validés sont utilisés dans le cas des patients dialysés. Les questionnaires d'activités quotidiennes comme l'IPAQ (International Physical Activity Questionnaire), l'ADL (Activities of Daily Living) et l'IADL (Instrumental Activities of Daily Living) se ressemblent fortement et sont normalement utilisés en gériatrie. Leur but est d'évaluer les activités domestiques que le patient effectue dans sa vie courante.

Ces questionnaires portent sur les activités physiques effectuées sur une période donnée. Le patient estime la durée, la fréquence de ses différentes activités mais aussi de ses périodes d'inactivité. Leur

remplissage prend du temps et nécessite de former le patient à la notion de quantification de ses activités. En général, les patients ont tendance à les surestimer. Les résultats sont souvent exprimés en équivalents métaboliques (MET-min/semaine). Le questionnaire de Le Voorrips, conçu pour des adultes et des personnes âgées, est aussi validé chez le patient dialysé⁴³⁸. Il tient compte des activités quotidiennes dans leur ensemble et permet de classer le niveau d'activité physique en 3 catégories : élevé, moyen ou faible.

c. Questionnaires de qualité de vie

L'évaluation complète du patient comprend en plus des évaluations cliniques et fonctionnelles une évaluation par entretien. Ce dernier aspect aborde le ressenti du patient sur sa santé, se fiant à ses dires, offrant un regard subjectif qui vient compléter l'objectivité des données fonctionnelles et cliniques. La santé du patient, pour être étudiée dans sa totalité, doit aussi tenir compte de sa santé perceptuelle.

- Questionnaire SF-36 (Short Form 36)

Le questionnaire SF-36 est le plus utilisé dans l'évaluation de la qualité de vie de la population générale. Il évalue des composantes physiques et psychologiques et peut être utilisé pour faire le suivi du patient pendant un programme de reconditionnement par exemple. Il comprend 36 questions réparties dans plusieurs items, mesurant d'une part la santé physique et d'autre part la santé mentale. Le score obtenu à ce test est compris entre zéro et cent.

Un score inférieur à 34 est associé à une mortalité et une fréquence d'hospitalisation multipliées par deux⁹⁵. La population saine obtient un score de fonctionnement physique aux environs des 85. Pour les patients dialysés, il s'avère compris entre 30 et 56, indiquant une mauvaise qualité de vie en lien avec l'altération de la condition physique, la fréquence des hospitalisations, la fatigue et la douleur²¹⁷.

- Questionnaire KDQOL-36™

Une version du questionnaire SF-36 adaptée au patient dialysé a été développée pour tenir compte des spécificités de la maladie chronique²⁵⁵. Il contient une version simplifiée du SF-36 de 12 items généraux (SF-12) et 24 items relatifs à la maladie rénale chronique. Comme le questionnaire dont il est issu, son remplissage nécessite du temps et la formation de l'investigateur. Certaines questions intrusives limitent aussi son utilisation courante.

- SARC-F

Le questionnaire SARC-F est rapide, facile et spécifique de la sarcopénie. Il se compose de 5 questions orientées autour des difficultés quotidiennes, un score supérieur à 4 laissant supposer la présence d'une sarcopénie (Table 5).

Question		Score
Force musculaire	Avez-vous des difficultés pour lever et transporter 5 kg ?	Aucune = 0 Un peu = 1 Beaucoup ou incapable = 2
Troubles de la marche	Avez-vous des difficultés pour marcher dans une pièce ?	Aucune = 0 Un peu = 1 Beaucoup, avec aide ou incapable = 2
Lever d'une chaise	Avez-vous des difficultés pour vous lever d'une chaise ?	Aucune = 0 Un peu = 1 Beaucoup, avec aide ou incapable = 2
Montée des escaliers	Avez-vous des difficultés pour monter 10 marches ?	Aucune = 0 Un peu = 1 Beaucoup ou incapable = 2
Chutes	Combien de fois êtes-vous tombé dans les 12 derniers mois ?	Pas de chute = 0 1 à 3 chutes = 1 ≥ 4 chutes = 2

Table 5 : Questionnaire SARC-F

Plusieurs études ont montré que le SARC-F possédait une valeur prédictive comparable à l'algorithme établi par l'EGWSOP⁴⁵². Surtout, avec une valeur prédictive négative de 96%, le test permet d'exclure la quasi-totalité des sujets non sarcopéniques. Chez le patient hémodialysé, ce test est mieux corrélé à la force musculaire des extenseurs du genou que la masse musculaire, quelle que soit la méthode d'évaluation²⁶².

3. Prise en charge du déconditionnement musculaire chez le patient hémodialysé

Le progrès en terme de technologie médicale et la modernisation des établissements de santé ont permis d'améliorer la qualité de vie des patients dialysés, même si elle n'est toujours pas comparable avec celle d'une population saine. Les patients apprennent à composer avec le caractère incurable de la maladie chronique, le régime alimentaire restrictif et le rythme de la dialyse. La dégradation des capacités fonctionnelles liée à l'IRCT et l'incidence psychologique que la maladie entraîne forment

souvent un frein à la pratique d'une activité physique : le patient adopte et conserve un état de sédentarité très avancé, dans lequel il ne fait que ses activités quotidiennes indispensables¹⁹⁰.

Le déconditionnement musculaire conduit à la diminution de la qualité de vie, à une perte d'autonomie et détériore le pronostic du patient hémodialysé^{256,273,297}. Afin d'éviter la dégradation de la santé, de la qualité de vie et la survenue d'une dépendance, le déconditionnement du patient hémodialysé nécessite une prise en charge précoce⁵⁰. L'absence de traitement pharmacologique de la dysfonction musculaire renforce l'intérêt de l'exercice physique, dont la pratique régulière associée à un soutien nutritionnel apparaît comme la principale contre-mesure efficace du déconditionnement musculaire. Dans ce contexte, la nature et l'intensité des exercices sont adaptées au statut fonctionnel et à l'âge et ont pour objectif d'augmenter la mobilité en développant la force et l'endurance des membres inférieurs et supérieurs. La pratique régulière d'une activité permet au tissu musculaire de recouvrer en partie son équilibre de fonctionnement et ainsi de limiter les effets néfastes du déconditionnement. En contrecarrant la perte progressive des capacités musculaires, l'exercice physique est bénéfique pour la fonction physique dans son ensemble.

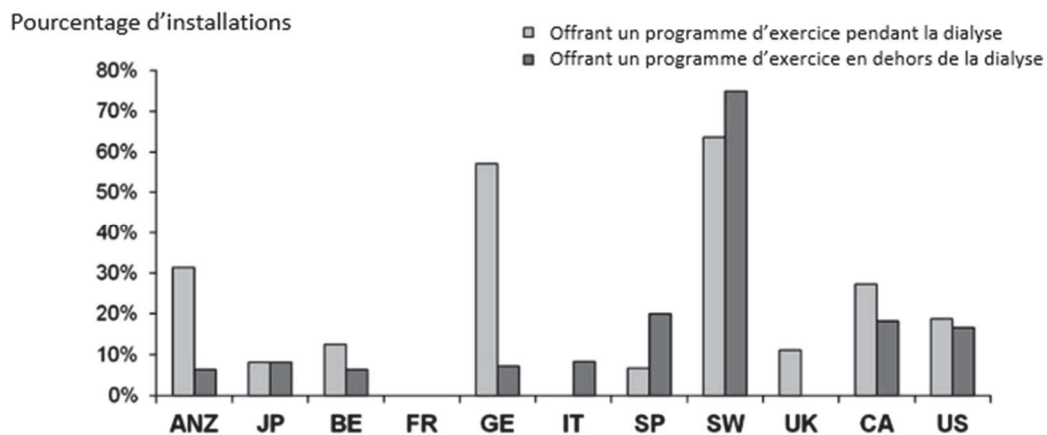


Figure 37 : Pourcentage d'installations de dialyse offrant un programme d'exercice par pays. Rapporté par le questionnaire des pratiques des unités DOPPS III (2005-06), installations n = 204. ANZ, Australie et Nouvelle-Zélande; JP, Japon; BE, Belgique; FR, France; GE, Allemagne; IT, Italie; SP, Espagne; SW, Suède; UK, Royaume-Uni; CA, Canada; US, Etats-Unis. D'après Tentori et al., 2010

Dans les pays scandinaves, depuis plus de 10 ans, la dialyse est associée de façon systématique à de l'exercice⁴²². Ailleurs dans le monde, peu de centres de dialyse mettent en place de tels programmes (Figure 37). Dans une enquête auprès de 505 néphrologues américains, bien que 97 % d'entre eux estiment la pratique sportive bénéfique pour les patients dialysés, seuls 38 % évaluent le déconditionnement et 5 % ont mis en place un programme d'activité physique¹⁹¹. Les obstacles

identifiés sont nombreux, tant du côté du patient (absence de motivation, fatigue, dépression, maladie, absence d'encouragement par l'équipe, méconnaissance des bénéfices), que du côté de l'équipe soignante (absence de conviction, manque de temps, de moyens ou de compétences) et de celui des établissements de santé (manque de moyens, de place,...)¹⁹¹. En France, l'exercice physique du patient hémodialysé commence à se développer mais ne fait pas encore partie du parcours de soin⁴²².

3.1. Activité physique et insuffisance rénale chronique terminale

Pourtant, l'exercice est bénéfique à de nombreux niveaux de l'IRCT, et la rupture de la spirale de déconditionnement améliore la vie au quotidien et a un effet positif sur les comorbidités associées à la maladie¹⁸⁹.

a. Intérêts majeurs

Les aptitudes physiques du patient souffrant d'IRCT sont liées à la mortalité et à la fréquence d'hospitalisation, et peuvent être utilisées comme prédicteur de survie²⁹⁷. L'augmentation de l'activité physique dans cette population réduit considérablement la mortalité^{202,408}. La pratique même à basse intensité d'une activité a aussi un effet positif sur les facteurs de risque cardiovasculaires notamment grâce à l'amélioration du profil lipidique, de la sensibilité à l'insuline et du contrôle tensionnel¹⁸¹. La pratique d'une activité physique régulière, même de basse intensité, permet d'assurer le maintien d'une fonction des membres inférieurs suffisante pour conserver son indépendance quotidienne^{45,446}. En réduisant la masse grasse et la dégradation protéique, ainsi qu'en améliorant la force musculaire et les capacités cardiovasculaires³¹³, la pratique d'une activité physique adaptée au patient dialysé améliore sa santé de façon globale.

Par ailleurs, l'activité physique est perçue par les patients dialysés comme un facteur de motivation pour maintenir une vie quotidienne active^{190,311}. Chez la plupart des patients reprenant l'exercice, les programmes proposés représentent le seul moyen de maintenir une activité régulière malgré les contraintes de la maladie. Les personnes dialysées qui ont recours à un encadrement se sentent en confiance avec un professionnel capable d'apprécier leur déconditionnement, rendant la pratique facile et sans risque¹³⁷. Ils accordent alors moins de place à la maladie et retrouvent un état émotionnel stable. L'ensemble des composantes psycho-sociales et notamment l'estime de soi, les sentiments d'anxiété et de dépression peuvent être améliorés par la pratique d'une activité aboutissant à une augmentation globale de la qualité de vie³⁹¹.

b. Indication thérapeutique

La pratique d'une activité physique est idéalement initiée sur prescription du néphrologue assurant le suivi du patient en l'absence de contre-indications majeures. En règle générale, les patients présentant des pathologies évolutives ou non stabilisées ne sont pas orientés vers de l'exercice physique²⁵⁵. Le suivi cardiologique systématique des patients sous hémodialyse permet aussi d'exclure la présence d'une pathologie valvulaire ou ischémique instable. Si l'exercice peut être adapté, l'amputation du genou, de la hanche ou du pied souvent en lien avec la prévalence du diabète dans cette population peut aussi constituer une contre-indication.

c. Recommandations générales

Le reconditionnement a pour but premier de restaurer autant que possible les capacités fonctionnelles, et donc la motricité, du patient sous dialyse. Il tient compte de son état physique dans sa globalité, et vise à améliorer toutes les composantes de la motricité : vitesse, force, endurance, coordination et équilibre. Le programme de reconditionnement doit s'adapter de telle façon que le patient en ressente rapidement les bienfaits.

Le déconditionnement du patient hémodialysé présente des similitudes avec la dysfonction musculaire observée dans le cadre du vieillissement et de la sédentarité. Les solutions thérapeutiques par l'exercice à proposer aux patients atteints d'IRCT sont ainsi comparables avec la prise en charge des personnes âgées sédentaires^{137,333,356}. Les programmes de reconditionnement des patients dialysés doivent ainsi comprendre des activités aérobies comme l'entraînement cardiovasculaire, des exercices de renforcement musculaire, des exercices d'équilibre et de souplesse²¹². Chez le patient dialysé, la présence d'une dénutrition nécessite en plus un support nutritionnel pour optimiser l'efficacité de l'intervention²⁵¹.

Tout programme de reconditionnement doit tenir compte des aptitudes résiduelles propres à chaque patient dialysé et doit être graduel. En général, l'intensité de l'activité est ajustée par rapport à la perception de la difficulté de l'effort du patient, en utilisant une échelle visuelle analogique comme celle de Borg³⁸, ou à la fréquence cardiaque maximale (FC_{max}) mesurée lors de l'épreuve d'effort¹³⁷. Cependant, l'utilisation d'une fréquence cardiaque cible est incompatible avec la prise d'un traitement bêtabloquant qui est courante chez le patient hémodialysé.

d. Activités adaptées

L'exercice peut être pratiqué pendant (perdialytique) ou en dehors de la dialyse (interdialytique). Les exercices de pédalage revêtent un intérêt particulier chez le patient dialysé : les mouvements cycliques

sont plus accessibles que la marche en début de reconditionnement. Le patient peut adapter la résistance et la fréquence de pédalage à sa fatigue, et donc prolonger l'exercice sans que celui-ci ne devienne épuisant ou douloureux. D'autres activités sont envisageables en fonction des aptitudes individuelles comme la natation, le basket-ball, la marche nordique ou la danse³¹².

La pratique interdialytique permet plus de liberté de mouvement et dans le choix de l'activité mais fait face à un manque de motivation de la part des patients³⁰⁵. Cette forme d'intervention est associée à une faible acceptabilité et à un taux d'abandon important, tous deux problématiques pour l'amélioration de la fonction physique, l'adhésion aux programmes constituant un facteur déterminant²⁵. L'efficacité de l'implémentation dépend à la fois du type d'exercice, de la fréquence des séances ainsi que de l'observance à ces programmes¹³. Seules des interventions efficaces associées à une bonne acceptabilité à long terme sont susceptibles de corriger la dysfonction musculaire.

L'exercice perdiaalytique constitue ainsi l'intervention la plus adéquate pour la prise en charge du déconditionnement du patient hémodialysé. La pratique d'activités physiques adaptées pendant la dialyse apparaît comme sécuritaire et montre des effets bénéfiques²⁰⁹. Elle permet un encadrement de l'activité, améliore l'efficacité de la dialyse et permet au patient d'optimiser ce temps d'alitement puisque dans la majorité des cas celui-ci ne veut ou ne peut dédier un moment de la journée à la pratique d'une activité physique¹⁹⁵.

3.2. Modalités d'exercice perdiaalytique

a. Exercice aérobie

L'exercice aérobie participe à améliorer la fonction cardiovasculaire réduite par l'IRCT et la sédentarité. Ces exercices d'endurance font appel à des mouvements répétés et rythmiques du bras non fistulé et des jambes. L'exercice de type aérobie permet au patient dialysé de restaurer la fonction du système cardiovasculaire et du muscle strié squelettique en améliorant particulièrement sa résistance à la fatigue. Du point de vue de la santé, la pratique régulière des exercices d'endurance est primordiale parmi les activités proposées au patient dialysé.

L'entraînement cardiovasculaire se doit de débiter doucement, pour arriver progressivement à augmenter au cours de l'exercice son intensité, sa fréquence et sa durée. A chaque séance, un échauffement de faible intensité prépare le patient dialysé à l'effort plus intense demandé en phase suivante de conditionnement. Une phase de récupération à faible intensité doit terminer la séance. On considère que l'échauffement et la récupération ont la même durée, tandis que la phase de conditionnement dure entre 5 et 30 minutes³¹². Le patient est incité à écouter les limites de son corps

en utilisant une échelle de perception de l'effort, allant d'une sensation de grande facilité à la perception d'un effort intense. Lorsque l'effort paraît trop épuisant, il est recommandé de baisser son intensité et de diminuer sa durée. Pour les patients ayant des capacités très inférieures aux valeurs attendues pour leur âge, il convient d'être très prudent et de réduire la durée et l'intensité des séances.

b. *Renforcement musculaire*

Les activités comme le renforcement musculaire sont complémentaires à l'amélioration des aptitudes aérobies. Ces exercices faisant intervenir les groupes musculaires majeurs viennent palier au phénomène de sarcopénie, d'atrophie musculaire et permettent l'amélioration du métabolisme énergétique, tous trois liés à la pathologie de l'IRCT et à l'état de sédentarité. Au niveau de la motricité, ce n'est plus l'endurance mais plutôt les composantes de force et de vitesse qui sont mises en jeu. La baisse des capacités de production de force explique en partie l'intolérance à l'exercice du patient hémodialysé⁹⁹. Chez le patient hémodialysé, l'exercice de résistance est ainsi le plus efficace pour lutter contre la perte de force et de masse musculaire¹⁹⁵.

Le travail de renforcement musculaire doit être réalisé au minimum deux fois par semaine. Il est conseillé de ne pas le faire sur des jours consécutifs pour éviter la fatigue musculaire qui induirait un arrêt prématuré de l'exercice. Les groupes musculaires majeurs sont travaillés avec des exercices d'intensité moyenne à forte mettant en jeu une résistance (poids, élastiques,...) et dans lesquels le patient répète les mouvements 10 à 15 fois. Les différents exercices sont à exécuter sous forme de séries, et le nombre de séries (1 à 3 en général) dépend des capacités résiduelles du patient. L'ajout de poids n'est pas obligatoire et doit être fait progressivement³¹².

Comme pour tous les exercices proposés au patient dialysé, il convient de garder à l'esprit le fort déconditionnement physique qu'entraîne la maladie sur tous les plans moteurs. Il faudra sans cesse adapter l'intensité et la durée des séances, et inciter le patient à faire son maximum mais aussi à écouter son corps. La règle est encore de commencer doucement pour préparer l'organisme à l'effort. Même si ces exercices sont a priori sans danger pour le patient dialysé, une résistance trop importante pourra causer des douleurs musculaires et articulaires. Le but n'est pas que l'exercice soit douloureux et que le patient, face à une charge d'exercice excessive, vienne compenser et donc mal effectuer les mouvements. Le point déterminant dans la réussite du renforcement musculaire est la précision des mouvements, et non pas uniquement la force mise en jeu. L'exercice doit être supervisé, surtout en début de programme, afin d'éviter les blessures et d'assurer l'efficacité du travail musculaire. L'ajout de poids doit toujours être accompagné d'un contrôle précis du mouvement. Il en va de même lors de l'augmentation de la durée d'un exercice, car le patient peut perdre en précision au fur et à mesure de l'effort.

Pour aider à la régulation de la pression artérielle, il est recommandé de ne pas bloquer sa respiration. L'expiration doit être faite au moment de l'effort, tandis que l'inspiration aura lieu pendant la relaxation³¹². Ces recommandations évitent une élévation trop importante de la tension, et permettent au patient concentré sur sa respiration d'effectuer des mouvements lents de manière contrôlée : il évite ainsi les gestes brusques qui peuvent entraîner des lésions, qui plus est si les membres sont chargés d'une résistance.

L'étirement avant effort et après le renforcement musculaire peut être intéressant : pour fonctionner correctement, les groupes musculaires doivent d'abord être échauffés progressivement. S'étirer régulièrement après les exercices permet d'éviter les phénomènes de crampes et de détendre le muscle sollicité. Les étirements après renforcement musculaire sont également recommandés pour favoriser une meilleure perfusion des muscles.

c. Assouplissements

La fonctionnalité du système moteur dépend aussi de la liberté de mouvement de chaque segment, la raideur musculaire faisant partie des troubles musculo-squelettiques associés à la sarcopénie²⁵⁹. Les troubles articulaires liés à l'IRCT et à l'état de sédentarité favorisent la perte de souplesse et d'amplitude articulaire du patient dialysé. Les exercices d'assouplissement ont pour but d'améliorer l'amplitude des mouvements par la sollicitation des articulations dans toutes les directions possibles. Ils peuvent constituer la phase d'étirement avant chaque exercice physique, ils sont faciles à réaliser en autonomie et ne demandent pas d'effort important. Ils rendront plus confortables les gestes du quotidien et participent au renforcement musculaire : un muscle qui se contracte bien est un muscle qui se relâche bien.

La règle de base des assouplissements est d'effectuer des mouvements lents et progressifs pour aller étirer au maximum le muscle. Une fois cette position atteinte, la posture doit être maintenue pendant 10 à 20 secondes³¹². Les sensations de tension guident le patient dans ses mouvements et doivent disparaître au fur et à mesure de l'étirement lorsqu'il est bien réalisé. Là encore, le patient doit écouter son corps car les exercices ne doivent pas paraître douloureux. La respiration lente et profonde est à suivre pendant toute la durée de la séance, en inspirant lors de l'étirement et en expirant lorsque la position est tenue.

3.3. Programmes de réhabilitation per dialytique

En pratiquant à la fois des exercices à dominante aérobie, des exercices de renforcement musculaire et des étirements, c'est toute la condition physique et la fonctionnalité motrice qui visent à être

améliorées. L'efficacité des programmes de réhabilitation dépend du type d'intervention, mais aussi de sa fréquence, de sa durée et de son intensité.

a. Diversité des programmes de réhabilitation

La plupart des études impliquant de l'exercice en dialyse se sont intéressées à la pratique d'exercices d'endurance. L'utilisation la plus courante est celle d'un ergomètre à résistance réglable adapté au lit du patient¹³⁹. La durée des programmes d'exercice aérobie varie entre 2 et 36 semaines, la majorité allant au-delà de 8 semaines¹³⁹. La fréquence des exercices varie entre 1 et 3 interventions par semaine, avec une durée moyenne d'exercice aux alentours de 45 minutes¹³⁹. Peu nombreuses sont les études impliquant de l'exercice en résistance pour lesquelles la durée des programmes varie de 8 à 36 semaines¹³⁹. Les sessions d'exercice durent entre 30 et 45 minutes, mais ce paramètre n'est pas toujours rapporté dans la littérature¹³⁹. Dans la majorité des études, les exercices de résistance ont lieu 2 ou 3 fois par semaine¹³⁹. Plusieurs modalités de contraction sont utilisées, avec une majeure partie d'exercices concentriques ou pliométriques impliquant des bandes élastiques et des poids. Les études combinant exercices d'endurance et de résistance font appel à des programmes de 12 à 48 semaines, avec des sessions d'exercice durant de 20 à 90 minutes répétées 2 à 3 fois par semaine¹³⁹.

Echelle de Borg originale	Echelle de Borg modifiée	% FC max	Perception
6	0	50 – 55%	Aucun effort
7			
8			
9	1		Très facile
10	2	55 – 60%	
11			Assez facile
12	3	60 – 65%	
13			Légèrement difficile
14	4		
15	5	65 – 75%	Difficile
16	6		
17	7	75 – 85%	Très difficile
18	8		
19	9	85 – 95%	Exténuant
20	10	95 – 100%	

Table 6 : Echelle de Borg de perception de l'effort.

Quelle que soit l'intervention, l'intensité est souvent évaluée sur l'échelle de Borg (Table 6) et s'étend de modérée à élevée¹³⁹. L'exercice a le plus souvent lieu dans les deux premières heures de dialyse, parfois au cours de la troisième¹³⁹. Si des recommandations générales existent pour la conception des programmes de réhabilitation, les études réalisées jusqu'alors présentent chacune des interventions

différentes qui sont souvent peu décrites. La comparaison de l'efficacité des programmes entre eux s'avère ainsi délicate, mais l'analyse des données permet d'estimer la nature des bénéfices potentiels et leur amplitude.

b. Efficacité des programmes de réhabilitation

La méta-analyse de Gomes Neto et al.¹³⁹ s'est focalisée sur les interventions per dialytiques et a récemment synthétisé les effets de l'exercice sur l'aptitude aérobie, la fonction musculaire et la qualité de vie du patient hémodialysé.

Aucun effet significatif des interventions de nature aérobie sur la VO_{2max} n'a été mis en évidence, tandis que la distance réalisée au test de marche de 6 minutes apparaît significativement augmentée après un programme d'exercice en résistance¹³⁹. L'exercice combiné est quant à lui associé à une augmentation significative de ces deux paramètres¹³⁹.

Les programmes incluant des exercices de résistance ont engendré une amélioration de la force musculaire qui n'est pas retrouvée avec la pratique d'exercices en aérobie seuls¹³⁹. L'efficacité de tels exercices se retrouvent dans l'augmentation de la masse musculaire, évaluée par scanner, et dans la force mobilisable, évaluée par dynamométrie^{16,139,377}. Les biopsies musculaires réalisées montrent aussi une augmentation de la qualité des fibres et de la vascularisation des grands groupes musculaires¹⁵⁷. Au niveau musculaire, il est établi que l'entraînement combiné permet de meilleurs gains de force qu'un entraînement en résistance seul¹³⁹.

Quelle que soit la nature de l'intervention, la pratique d'exercice permet d'augmenter la qualité de vie des patients hémodialysés. De façon intéressante, l'étude qualitative de Thompson et coll.⁴²⁵ a évalué la compliance des patients à réaliser différents programmes d'entraînement : endurance, résistance et combiné. Il apparaît clairement que le caractère varié des exercices lors des séances d'entraînement combiné est un facteur motivant une très bonne adhésion au programme et l'envie de continuer la pratique d'exercice. Ainsi, la réhabilitation combinant exercices d'endurance et de résistance a récemment été montrée comme optimale pour le reconditionnement du patient en HD^{51,139}.

4. Perspectives de réhabilitation par l'exercice excentrique

Si le tissu musculaire représente le principal organe touché par une réduction de l'activité physique, avec une diminution de la masse et de la force musculaires, l'atteinte du système cardiovasculaire devient progressivement un facteur supplémentaire limitant la capacité de l'organisme à soutenir un effort⁸¹. L'ensemble de l'organisme développe progressivement une intolérance physiologique à

l'effort qui rend d'autant plus difficile la pratique d'exercice. De nombreux freins se manifestent ainsi à la pratique d'une activité physique lorsque le cercle vicieux du déconditionnement est installé, rendant nécessaire aujourd'hui d'établir des stratégies efficaces pour restaurer la fonction musculaire en présence d'une intolérance à l'effort. L'exercice excentrique pourrait alors être une alternative de choix pour la réhabilitation du patient hémodialysé.

4.1. Intérêts majeurs

En aigu, grâce à son efficacité énergétique, l'exercice excentrique ne sollicite que peu le système cardiovasculaire³²⁰. Si l'action excentrique a pour effet mécanique de redistribuer la perfusion sanguine et d'augmenter le retour veineux, l'augmentation de la fréquence cardiaque et respiratoire demeure relativement faible au cours de l'exercice²³⁶. Pour les charges de travail les plus élevées, l'augmentation de la fréquence cardiaque lors d'un exercice excentrique demeure toujours inférieure à celle atteinte lors d'un exercice concentrique. Les observations précédentes font état de fréquences cardiaques autour de 100 bpm, alors que le rythme cardiaque peut facilement atteindre 140 bpm lors d'un exercice concentrique même effectué à une intensité modérée. Cette différence dans la réponse cardiovasculaire à l'effort s'explique par une demande en oxygène nettement moins importante : à charge équivalente, elle n'excède pas un tiers de la demande générée lors d'un effort concentrique³²⁰.

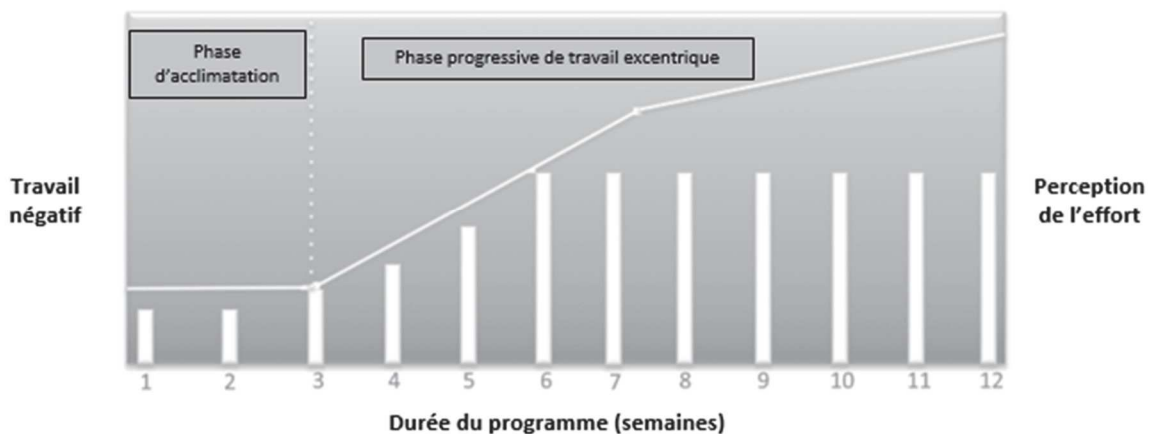


Figure 38 : Progression de la charge de travail excentrique en réhabilitation. La phase d'habitation est réalisée à charge légère pour limiter la survenue de dommages musculaires tout en déclenchant le phénomène de protection du muscle vis-à-vis du travail excentrique. La sensation de difficulté à l'exercice (barres verticales) augmente alors parallèlement à la charge jusqu'à la 6ème semaine avant de se stabiliser tandis que la charge de travail continue d'augmenter. D'après LaStayo et al., 2013.

Peu d'études ont mesuré de façon directe la charge de travail lors d'un exercice excentrique, par manque d'outils de mesure ou par leur difficulté de mise en œuvre. Généralement, la puissance

développée est évaluée par le biais de méthodes indirectes comme la calorimétrie, la consommation d'oxygène ou la perception de la fatigue. Lorsque l'intensité de l'exercice est basée sur la perception de l'effort, l'exercice excentrique est bien toléré, que ce soit par des sujets sains que par des patients présentant des déficits cardiorespiratoires chroniques comme l'insuffisance cardiaque²⁸. L'efficacité énergétique de l'effort en excentrique réduit la sensation de fatigue bien que la charge de travail soit importante en raison de la faible sollicitation du système cardiovasculaire par rapport à un effort effectué en régime concentrique. Au cours d'un entraînement, après la phase d'acclimatation à l'exercice excentrique, la perception de l'effort oscille entre « facile » et « légèrement difficile » alors que la charge de travail continue d'augmenter ; indiquant une adaptation du muscle sous l'effet de l'augmentation de la charge de travail (Figure 38) qui semble perdurer au-delà de 12 semaines²²⁷.

4.2. Gains fonctionnels

Ce type d'entraînement s'avère être efficace comme contre-mesure du déconditionnement chez les populations présentant une sarcopénie ou une dynapénie. Initialement, il avait été proposé d'utiliser l'entraînement en excentrique pour diminuer le risque de chute chez les personnes âgées. L'entraînement excentrique apparaît significativement plus efficace pour diminuer ce risque comparé à un entraînement concentrique classique. La transférabilité des gains obtenus en excentrique se révèle alors être d'intérêt dans l'amélioration de la vie quotidienne et de l'indépendance, en réduisant à la fois le risque de chute et en améliorant la force musculaire isométrique et consécutivement la mobilité^{183,228}.

L'exercice excentrique est efficace pour induire des adaptations d'ordre morphologique, structurel et fonctionnel au sein du tissu musculaire à la fois chez des personnes âgées ou des malades chroniques. Pour l'heure, l'efficacité de l'exercice excentrique en tant que contre-mesure du déconditionnement musculaire a été démontrée dans de nombreux contextes⁶⁴. Les améliorations fonctionnelles sont généralement équivalentes et parfois supérieures à celles relevées après des programmes classiques de réhabilitation. Chez le sujet sain, les adaptations musculaires perdurent plus longtemps qu'après un entraînement concentrique conventionnel. La charge de travail élevée associée à l'exercice excentrique stimule fortement les processus de mécano-transduction au sein de la cellule musculaire conduisant à des adaptations particulièrement marquées par rapport à des stimulations classiques de type concentrique¹³¹.

Lorsque l'exercice excentrique est pratiqué sous forme d'entraînement chez les personnes âgées, plusieurs études ont montré de meilleurs gains en termes d'aptitudes physiques, une nette amélioration du profil lipidique ainsi que de la sensibilité à l'insuline par rapport à un entraînement à

charge équivalente en régime concentrique⁶⁴. En réponse à un stimulus mécanique, le tissu musculaire augmente la synthèse protéique pour permettre l'ajout de nouvelles unités contractiles. Par rapport au régime concentrique, l'exercice excentrique permet d'atteindre de plus hauts niveaux de forces, et l'addition de nouveaux sarcomères est d'autant plus rapide et importante. Des gains de force et de volume musculaire importants ont ainsi été relevés après seulement 3 semaines d'entraînement excentrique à charges modérées¹⁷². De nombreuses études ont montré que lorsque l'exercice excentrique est utilisé de façon répétée, l'augmentation de la surface de section, correspondant à l'épaisseur de muscle, et de la longueur du fascicule, est majorée par rapport à un entraînement concentrique^{64,150,228,339,436}. Plusieurs études ont par ailleurs mis en évidence des adaptations plus importantes et plus durables après un entraînement excentrique chez des sujets sains²³⁴.

4.3. Limites chez les populations fragiles

Ainsi, l'entraînement excentrique pourrait s'appliquer à des populations fortement déconditionnées, pour lesquelles les contraintes métaboliques associées au travail concentrique seraient trop importantes²²⁵. A l'heure actuelle, cette méthode d'entraînement est très peu utilisée dans les programmes de réhabilitation, et ce principalement parce que sa pratique à de fortes intensités, comme chez l'athlète, entraîne des dommages musculaires et des douleurs⁴³⁶. On sait aujourd'hui que la vitesse d'exécution des mouvements doit être rigoureusement contrôlée chez les sujets naïfs. Les vitesses faibles favorisent la synchronisation des mouvements, améliorant la reproductibilité du travail tout en limitant la survenue de microlésions. Au contraire, les vitesses élevées peuvent être associées à un défaut de coordination motrice qui se traduit par un effort musculaire désorganisé sollicitant d'autant plus les complexes muscle-tendons et les articulations.

Ainsi, certains facteurs comme le groupe musculaire sollicité, la vitesse d'allongement et le nombre d'étirements semblent avoir une influence sur la génération de dommages musculaires. De même, il semble que les muscles des membres supérieurs soient plus prédisposés aux dommages musculaires induits par des contractions excentriques que les membres inférieurs⁶⁴. Ceci s'explique sans doute de par la composition des tissus musculaires orientée essentiellement vers les fibres rapides, moins riches en collagène réticulé que les fibres lentes. Enfin, aucune sensibilité particulière des personnes âgées à ces dommages n'a jusqu'ici été mise en évidence (Figure 39), ces derniers conservant une aptitude au travail excentrique relativement élevée²³².

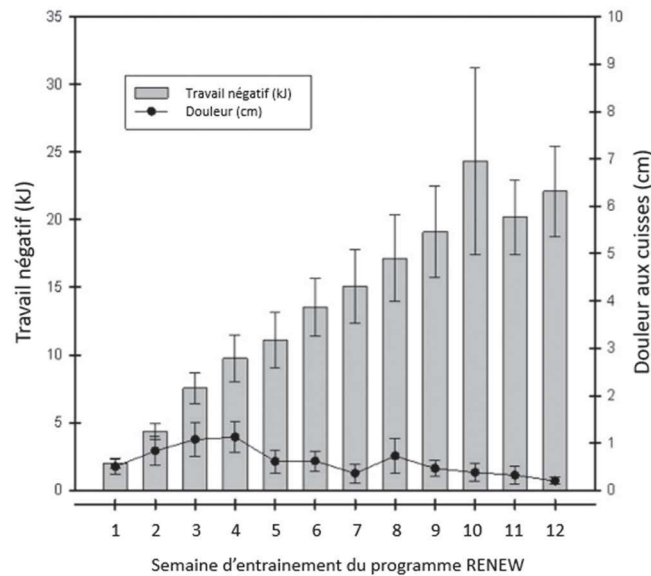


Figure 39 : Evolution de la quantité moyenne de travail négatif et des douleurs estimées en centimètres par échelle visuelle analogique au cours du programme de reconditionnement excentrique « RENEW » chez des personnes âgées ayant survécu au cancer et présentant une faiblesse musculaire. D'après LaStayo et al., 2010

De nombreuses études conduites sur des populations fragiles ont ainsi mis en évidence le phénomène du « Repeated Bout Effect », une protection du tissu musculaire face aux dommages induits par l'étirement, après seulement une ou quelques sessions d'exercice excentrique. L'intensité de la première exposition à l'exercice excentrique ne semble pas être un point déterminant l'amplitude de la protection induite, puisque quelques répétitions à charge légère permettent de limiter la survenue de DOMS à l'exposition suivante. En revanche, la longueur du muscle lors de la contraction possède une importance majeure, si bien qu'un exercice isométrique pratiqué à longueur quasi-maximale déclenche aussi un phénomène de protection lors de futures contractions excentriques¹⁸⁰.

Si les mécanismes moléculaires qui sous-tendent le Repeated Bout Effect sont à l'étude, il semble que des adaptations nerveuses, mécaniques et biologiques interviennent de concert avec un remodelage de la matrice extracellulaire¹⁸⁰. Tandis qu'il a longtemps été avancé que ces micro-dommages successifs causés par les contractions excentriques étaient nécessaires au remodelage du tissu, il est aujourd'hui montré que l'amplitude des adaptations, et particulièrement de l'hypertrophie, est totalement indépendante de tout dommage musculaire¹²³.

4.4. Applications cliniques

Si des précautions dans l'intensité des exercices doivent être prises notamment lors des premières sessions d'habitation, les patients présentant une intolérance cardiorespiratoire à l'effort tolèrent

très bien ce type d'entraînement^{28,277,310,350}. L'efficacité de l'exercice excentrique en réhabilitation est aujourd'hui prouvée dans de nombreux contextes de pathologies chroniques comme le cancer, la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), l'accident vasculaire cérébral, l'insuffisance cardiaque chronique, la polyarthrite rhumatoïde, le diabète de type 2, la dépression ou encore la schizophrénie²⁷⁷. Depuis de nombreuses années, c'est aussi une pratique courante qui intervient de façon précoce dans la rééducation du genou après une arthroplastie totale²⁶¹.

Désormais, il est établi que l'entraînement de type excentrique peut être pratiqué en toute sécurité, même sur des populations fragiles, sans générer de façon excessive des DOMS sur des muscles naïfs à cet exercice. La durée optimale des sessions d'exercice semble être autour de 20 minutes, en incluant un échauffement et une récupération spécifique, particulièrement chez les plus déconditionnés qui sont plus sujets aux DOMS. La pratique d'un entraînement fractionné, alternant effort et repos sur des temps très courts, semble particulièrement adaptée aux sujets naïfs en favorisant le phénomène de protection induite ou Repeated Bout Effect^{227,236}. Dans une optique de réhabilitation, il convient d'augmenter progressivement la charge de travail sur des populations fragiles³¹⁰.

RESUME DU CHAPITRE II

- L'insuffisance rénale est une **maladie chronique** d'apparition progressive dont le stade terminal nécessite un traitement de suppléance par **hémodialyse**.
- Les patients hémodialysés présentent un **déconditionnement** important provenant à la fois des **conséquences** directes de la maladie sur l'organisme et de son retentissement sur leur mode de vie qui tend à être fortement **sédentaire**.
- Le **muscle strié squelettique** du patient hémodialysé comporte des **anomalies** structurales, morphologiques et métaboliques qui entraînent une diminution importante de la **fonction musculaire** qui s'aggrave avec l'avancée en âge.
- L'importance du **déconditionnement** du patient hémodialysé favorise le **déclin** des aptitudes fonctionnelles, le risque de **chute**, la survenue d'une **dépendance** dans les activités quotidiennes et une **mortalité** précoce.
- L'**évaluation** de ce déconditionnement suit les dernières recommandations pour le dépistage de la **sarcopénie** dans son ensemble en tenant compte des **spécificités** rencontrées chez le patient hémodialysé.
- La prise en charge du déconditionnement n'est pas **systématique** et **l'exercice physique** combiné au soutien nutritionnel demeure la seule thérapeutique **efficace** pour maintenir voire restaurer les aptitudes du patient hémodialysé.
- La **réhabilitation** du patient dialysé doit comprendre des exercices d'**endurance** et de **résistance** pour améliorer l'**aptitude aérobie** et la **fonction musculaire**.
- L'exercice **excentrique** est une **perspective** de réhabilitation pour les patients présentant une **intolérance à l'effort**, mais demeure sous-utilisée en raison des **dommages musculaires** qu'une pratique mal contrôlée peut engendrer.

CHAPITRE III : EXERCICE EN HEMODIALYSE

Plusieurs problématiques relatives à la réhabilitation du patient dialysé ont été explorées. Deux études ont été réalisées pour y répondre dans le cadre de ce travail de thèse.

Etude #1 : Réhabilitation combinée du patient hémodialysé

Rationnel scientifique et hypothèses

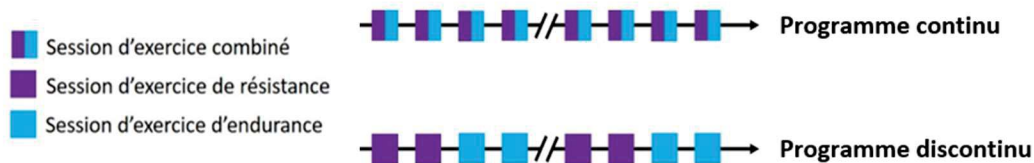
Le phénomène d'interférence du développement de la force induit par l'exercice combiné chronique a d'abord été mis en évidence chez l'athlète, puis chez le sujet sain âgé. Il a ainsi été observé que l'entraînement en endurance peut limiter les gains neuromusculaires induits par l'entraînement en résistance^{51,54,267}. Pourtant, il apparaît clairement que l'entraînement combiné est le plus efficace chez la personne âgée, engendrant des adaptations musculaires et cardiovasculaires nettement plus importantes qu'un entraînement en endurance ou en résistance seul^{51,55,387}.

Chez le sujet sain, plusieurs facteurs ont été identifiés comme favorisant le phénomène d'interférence, dont la fréquence d'entraînement, le temps de repos et l'ordre des exercices lors de l'entraînement combiné. Il a ainsi été démontré qu'une fréquence supérieure ou égale à 3 séances par semaine induisait un phénomène d'interférence, avec un déficit de production de force comparé à un entraînement en résistance seul, expliqué, au moins en partie, par une interférence dans les adaptations neurales⁵⁵. La pratique bihebdomadaire associée à un temps de repos suffisant permet des gains importants d'aptitude aérobie, de force et de puissance musculaires⁵¹. Comme chez le sportif, la pratique des efforts de résistance avant les exercices d'endurance semble être une stratégie efficace pour éviter la fatigue neuromusculaire favorisant l'interférence^{51,54}.

Chez le patient hémodialysé, l'exercice combiné est aussi la stratégie la plus efficace³⁷⁷ pour lutter contre l'atrophie musculaire et la diminution des aptitudes fonctionnelles. Il est ainsi probable qu'un phénomène d'interférence ait lieu au cours d'un programme de réhabilitation combinée, limitant les gains de force musculaire. Chez l'athlète et la personne âgée, une des stratégies pour éviter le phénomène consiste à pratiquer les deux modalités d'effort sur des séances différentes. En offrant un temps de repos suffisant entre les types d'exercice, cette technique permet de limiter la fatigue neuromusculaire favorisant l'interférence.

Cette première étude établit le lien entre entraînement combiné et phénomène d'interférence chez le patient hémodialysé afin d'établir la modalité optimale de pratique des deux types d'effort. Il est

probable que des différences de gains de force musculaire existent entre un programme continu mêlant à chaque séance les deux types d'effort et un programme discontinu distinguant temporellement les efforts en endurance et en résistance. A notre connaissance, aucune étude n'a jusqu'ici proposé un programme de réhabilitation combinée discontinu, alternant les modalités d'effort par blocs de dominante chez le patient hémodialysé.



L'hypothèse principale de cette étude est que la séparation temporelle des exercices d'endurance et de résistance au cours de la réhabilitation combinée du patient hémodialysé par un programme discontinu permet d'optimiser les gains fonctionnels obtenus après un programme de réhabilitation continu. Les hypothèses secondaires de ce travail sont que l'exercice combiné (i) est bien toléré et est associé à une bonne adhésion, (ii) augmente la force des membres et (iii) améliore la fonction physique globale. La vérification de ces hypothèses permettra d'établir les modalités optimales de réhabilitation combinée du patient hémodialysé et de mesurer le retentissement d'un tel programme sur les principales composantes physiologiques de la motricité.

Implication personnelle

J'ai personnellement participé à la conception de l'étude, à la demande d'autorisation du comité d'éthique, à l'inclusion des patients, aux mesures fonctionnelles, à la réhabilitation des patients, au recueil et au traitement des données ainsi qu'à la rédaction de l'article dont je suis le premier auteur. Cet article est intitulé :

Does the interference phenomenon affect strength development during same-session combined rehabilitation program in hemodialysis patients?

Il est actuellement soumis au journal *Seminars in Dialysis* dont l'impact factor est de 2,16.

Manuscrit

Does the interference phenomenon affect strength development during same-session combined rehabilitation program in hemodialysis patients?

Laura Pavlin ^{Ph.D.s.*†}, Annie Rodriguez^{†‡} ^{Ph.D.}, Isabelle Ohresser[†] ^{R.D.}, Martin Larivière[†] ^{M.S.}, Cyril Portal[†] ^{M.S.}, Jean-Paul Cristol[†] ^{M.D.}, Henri Bernardi^{*} ^{Ph.D.}, Cécile Turc-Baron[†] ^{M.D.} and Robin Candau^{*} ^{P.U.}

* DMEM, UMR866, University of Montpellier, INRAE, Montpellier, France

† AIDER Santé, Montpellier, France

‡ Department of Biochemistry, University Hospital of Montpellier, University of Montpellier, Montpellier, France

Corresponding author: Laura Pavlin, laura.pavlin@inrae.fr

Abstract

Objective: This study aimed to assess if an interference effect could blunt the neuromuscular gains induced by a same-session combined rehabilitation in hemodialysis (HD) patients.

Methods: Patients exercised twice a week, for 16 weeks, over their hemodialysis sessions. They were either always trained with resistance and endurance exercises (continuous training, “CONT”), or alternatively with one week of resistance alternated with one week of endurance (discontinuous training, “DISC”). Adherence and workload were continuously recorded. Short Physical Performance Battery (SPPB) score, unipodal balance, handgrip and quadriceps strength were evaluated before and after training intervention.

Results: Adherence to both programs was high (>90%). SPPB score had significantly improved (CONT: +1.5point, DISC: +1.2pt, $p<0.001$), like unipodal balance (CONT: +3.7seconds, DISC: +5.5s, $p<0.05$), handgrip strength of exercised (CONT: +5.5kg, DISC: +5.6kg, $p<0.001$) and of non-exercised arm (CONT: +4.4kg DISC: +2.8kg, $p<0.01$) as well as maximal quadriceps strength (+22N.m⁻¹ for dominant and +29N.m⁻¹ for non-dominant leg in both groups, $p<0.001$) bearing no difference between the trainings.

Conclusion: Same-session combined training does not induce an interference effect in HD patients, and temporal separation of exercises does not optimize strength gains. These practical data may be relevant for clinicians and practitioners to alternate endurance and resistance exercises.

Key words: interference effect, exercise training, dynapenia, sarcopenia, intradialytic exercise

Introduction

End-stage renal disease (ESRD) patients undergoing hemodialysis (HD) are most of the time sedentary, with less than 5000 footsteps a day ⁽¹⁾. Moreover, ESRD is frequently associated with comorbidities (sarcopenia, diabetes mellitus, hypertension) also contributing to an extremely low daily level of activity. Physical inactivity leads to a muscular remodeling decreasing muscle endurance and strength and tolerance to exercise ⁽²⁾. Decrease in muscular mass impedes mobility and increases risk of falling, but also favors intramuscular fat infiltration, promoting insulin resistance, metabolic syndrome and associated systemic consequences ⁽³⁾.

Numerous studies have demonstrated that physical function is a strong survival predictor and also correlates with a decrease in hospitalization frequency in ESRD patients ⁽⁴⁾. Increasing physical activity considerably reduces mortality ^{(5),(6)}. Even low-intensity practice was associated with improved lipid profile, insulin sensitivity and tensional control reducing all-causes cardiovascular events risk ⁽⁷⁾. Exercise during HD procedure was shown to be feasible and safe ⁽⁸⁾⁻⁽¹⁶⁾ but also beneficial to the global physical function ⁽¹⁷⁾.

Exercise can be qualified of either endurance (aerobic) or resistance (mainly anaerobic): endurance training corresponds to a low to moderate intensity exercise performed during a long period of time whereas resistance exercise implies moderate to high intensity contractions during a short period of time. When these contraction modalities are chronically practiced, adaptation of muscle tissue is specific to each regimen. Recently, Scapini et al. ⁽¹⁸⁾ concluded that training combining endurance and resistance exercises was the most effective method to improve aerobic aptitudes and arterial blood pressure in adult ESRD patients. From these observations, combined training offering both endurance and strength exercises is the optimal rehabilitation to struggle against HD patients deconditioning ^{(12),(19)}.

However, when the two modalities are used in the same session in young or old healthy subjects, adaptation mechanisms of each regimen seem to compete with the other ⁽²⁰⁾. The interference of endurance exercise on strength development is a phenomenon that was identified early in the 1980s ⁽²¹⁾. If at the beginning, a combined training including endurance and resistance exercises is as effective as pure resistance exercises to increase strength, after few weeks endurance exercises impede strength development. This 'interference' effect inside the muscle can blunt its full adaptive response and may limit the potential neuromuscular gains ^{(19),(22)-(24)}.

To our knowledge, interference effect has not been studied in HD patients following a combined rehabilitation program. Thus, we aimed to investigate whether same-session combined exercise training could blunt the strength gains induced by a combined exercise training regimen proposing to alternate resistance and endurance sessions. We hypothesized

that temporal separation of exercises would permit to optimize neuromuscular improvements compared to a same-session combined training program. By doing so, we aimed to provide practically relevant information for clinicians and practitioners in training program designs for an optimal rehabilitation of HD patients.

Subjects, material and methods

Study protocol and design

This study was designed as longitudinal with measurements before and after exercise intervention in order to compare the efficiency of a 16-weeks same-session combined exercise training (Continuous program, “CONT”) on one hand, and a 16-weeks combined exercise training alternating resistance and endurance sessions on the other hand (Discontinuous program, “DISC”) on physical function of HD patients. The study procedures complied with the Declaration of Helsinki on human experimentation and were approved by local ethics committee (IRB-MTP_2020_08_202000560).

Participants

A total of 20 hemodialysis patients aged from 18 to 85 years old were recruited and provided written informed consent. Inclusion criteria were: HD vintage >3months, stable in HD, with no recent hospitalization, life expectancy >6months, with medical intradialytic exercise prescription. Exclusion criteria were: contraindication or inability to perform exercise, unstable ischemic or valvular cardiomyopathy, peripheral obliterative arteriopathy >stage III, dysfunctional knee or hip prosthesis, severe respiratory insufficiency, BMI >35, cardiac pacemaker, pregnancy, patient under guardianship. Participants were sex and age-matched and allocated in “Continuous” (CONT) and “Discontinuous” (DISC) groups with similar SPPB scores at baseline.

Training procedures

All the patients continued their usual hemodialysis (HD) procedure and had exercise intervention for 30-minutes during all their three weekly dialysis sessions. Exercising took place during the first two hours of dialysis using elastic bands and therapy weights for resistance exercising and a bed-adapted cycle ergometer for endurance exercising (Bed Bike, Lemco). The distance virtually traveled is recognized as a motivational factor ⁽²⁵⁾ and was used as a target to achieve. Resistance level, speed and kilometer count were recorded. Ergometer difficulty level was individually adapted to correspond to a 4 (moderate intensity) on the 10-point Borg Rating Perceived Exertion (RPE) scale. The fistula arm remained immobile, and elastic bands resistance and therapy weights (Cuff® Therapy weights, Fabrication Enterprises

Inc.) were individually chosen to allow for 15 to 25 repetitions in the same set and number of sets was progressively increased.

Adherence to the protocol

The number of exercise sessions performed was recorded for each participant. All dialysis procedures were associated with exercise during the 16 weeks protocol, as a total of 48 sessions scheduled. The adherence was calculated as the percentage of effectively carried out sessions.

Primary and secondary outcomes

Short Physical Performance Battery (SPPB) allows to assess lower limb function and patients risk of disability^{(26) (28)}. SPPB score was chosen as primary outcome and was assessed before dialysis for all the patients. Secondary outcomes included quadriceps contraction force in isometric condition, 30-s unipodal balance test and handgrip strength evaluated with a dynamometer.

Maximal grip strength

Handgrip testing was performed at the beginning of the program, then every 4 weeks and at the end of the protocol for all the patients. The measurements pre- and post-training were made for each arm whereas intermediary tests were only performed on the non-fistula arm.

Maximal voluntary isometric contraction force

Before and after the training program, maximal voluntary isometric contraction force (MVC) was measured during knee extension with a handheld dynamometer (Microfet2, Hoggan Health), according to the method previously published⁽²⁹⁾.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using StatView®. Each quantitative parameter was presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). Descriptive analyses were carried out for patients' characteristics and exercise parameters. When appropriate, a repeated measures ANOVA, a Friedman ANOVA or a pairwise Wilcoxon test was performed. A result was considered as significant when p-value was lower than *: 0.05, **: 0.01 and ***: 0.001.

Results

Participants

Of the 70 patients screened for eligibility, 41 did not meet inclusion criteria. Among eligible patients, 9 declined to participate. A total of 20 patients were included and 16 completed the study (CONT, n=8; DISC, n=8). Baseline characteristics are shown in **TABLE 1**. Briefly, mean age was 53.5 ± 6.4 years in the CONT group and 54.8 ± 5 years in the DISC group. Mean SPPB score was 9.0 ± 0.9 in the CONT group and 8.4 ± 1.1 in the DISC group.

TABLE 1. Baseline characteristics of study participants

	All (n=20)	Continuous training (n=10)	Discontinuous training (n=10)
Age	54.2 ± 4.0	53.5 ± 6.4	54.8 ± 5.0
Sex (male)	9	5	4
Time on HD (years)	3.7 ± 0.7	4.1 ± 1.3	3.3 ± 0.7
Cause of ESRD			
Diabetes	1	1	0
Glomerulonephritis	9	3	6
Hypertension	2	1	1
Polycystic kidney disease	1	1	0
Reflux/urological	3	2	1
Other	1	1	0
Unknown	3	1	2
BMI	25.4 ± 1.0	25.4 ± 1.2	25.4 ± 1.6
Diabetes	3	2	1
Hypertension	15	7	8
β blocker	5	3	2
Coronary artery disease	1	1	0
Heart failure	3	2	1
SPPB score	8.7 ± 0.7	9.0 ± 0.9	8.4 ± 1.1

Adherence to training program and workload

Exercise parameters are shown in **TABLE 2**. Adherence was high (>90% of planned sessions) in both groups and tended to be higher in the CONT group ($p=0.07$). Global exercises duration were similar and only temporal repartition of exercises differed between programs. However, virtual kilometers traveled were higher in the CONT group than in the DISC group (350.1 ± 36.0 km vs. 266.3 ± 54.4 km) but this difference was not statistically significant ($p=0.1$). Resistance level of the cycle ergometer did not differ between groups (CONT: 3.6 ± 0.2 vs. DISC: 3.5 ± 0.3). Workload of resistance exercises was also similar regarding the mean weight lifted (1.9 ± 0.3 kg in both groups).

TABLE 2. Exercise parameters of each training program.

	Continuous training (n=8)	Discontinuous training (n=8)
Adherence (%)	98.3 ± 1.0	94.3 ± 2.9
Kilometers traveled	350.1 ± 36.0	266.3 ± 54.4
Cycling resistance level	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.3
Mean weight lifted (kg)	1.9 ± 0.3	1.9 ± 0.3

Physical function

Primary outcome for this study was the SPPB score shown on **FIGURE 1 (A)**. CONT and DISC groups were constituted with similar SPPB scores at the beginning of the study and tests were performed by the same examiner before and after training program. Mean SPPB reached 10.4 ± 0.6 points in the CONT group and 9.6 ± 0.9 points in the DISC group after training program and was statistically different from baseline (+1.5 point in CONT group and +1.2 point in DISC group; $p < 0.001$). No difference was found between trainings probably due to high range of values in each group. However, before training program, the range of values was larger than after, as the lowest score was 3 whereas it was 5 at the end of the study.

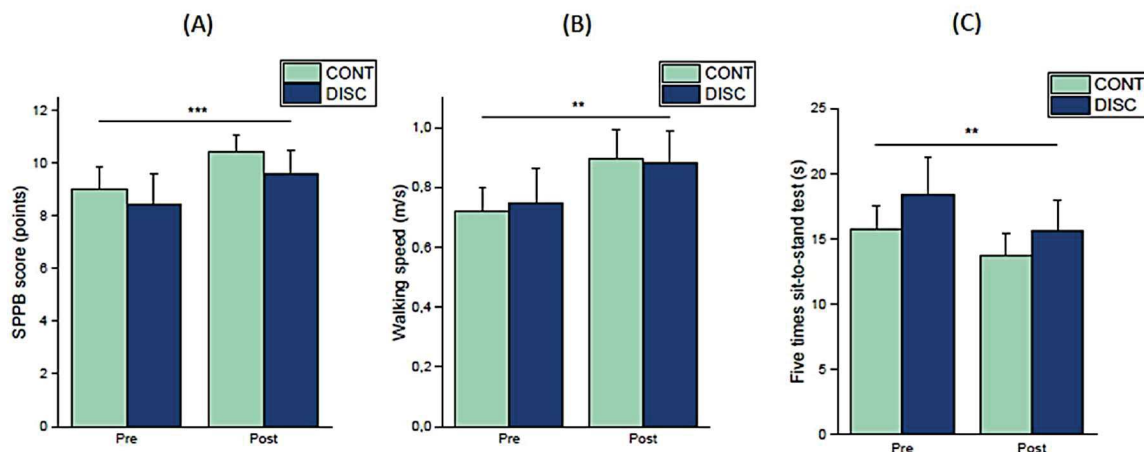


FIGURE 1. Evolution of (A) Short Physical Performance Battery score, (B) walking speed component and (C) five times sit-to-stand component before and after training program for each group.

Balance score was not statistically different from baseline at the end of the protocol (data not shown). Nevertheless, walking speed was significantly improved after training program in both groups (**FIGURE 1 (B)**, $p < 0.01$). In the same way, the time it took to perform five sit-to-stands was significantly reduced at the end of the study, corresponding to a

mean gain of 12.5% and 15.3%, in the CONT and DISC groups, respectively (**FIGURE 1 (C)**, $p < 0.01$). No training type effect was found for these two parameters.

Unipodal balance

Results of 30-s unipodal balance tests are depicted on **FIGURE 2A** and **2B**. Exercise training significantly improved this parameter for both legs in each group ($p < 0.05$) corresponding to a gain of 21.7% and 23.5%, in the CONT and DISC groups, respectively. No significant difference between training programs was found, although there was a slight tendency for higher improvements in the DISC group compared to CONT group ($p = 0.2$).

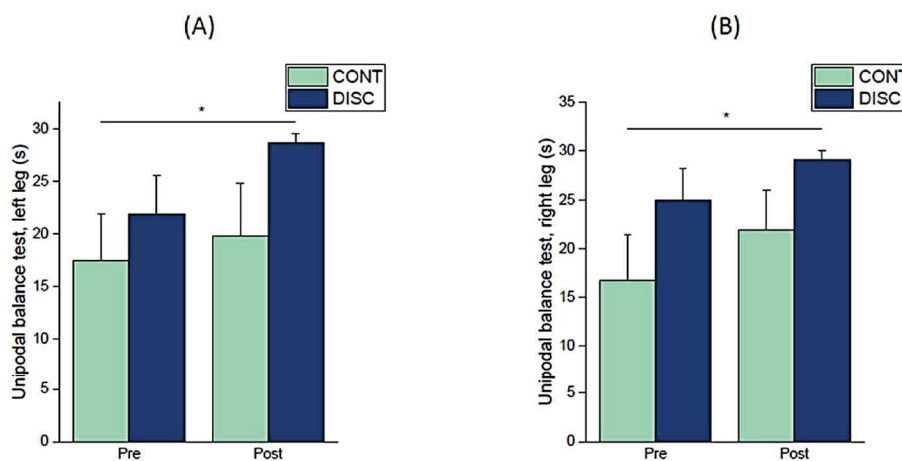


FIGURE 2. Evolution of unipodal balance test of (A) left leg and (B) right leg before and after training program for each group.

Handgrip strength

Results of maximal grip strength testing are depicted on **FIGURE 3**. Significant improvements were found for the non-fistula arm (**FIGURE 3 (A)**, +5.5kg and +5.6kg in the CONT and in the DISC group, respectively) as well as for the fistula arm (**FIGURE 3 (B)**, +4.4kg and +2.8kg in the CONT and in the DISC group, respectively). Handgrip strength follow-up shows that exercise training significantly improved maximal grip force of non-fistula arm all along both training programs (**FIGURE 3 (C)**, $p < 0.001$). Whereas only small increases were found after 8 weeks of training in each group, major improvements occurred at the final measure time point. No significant difference was found between groups ($p = 0.34$).

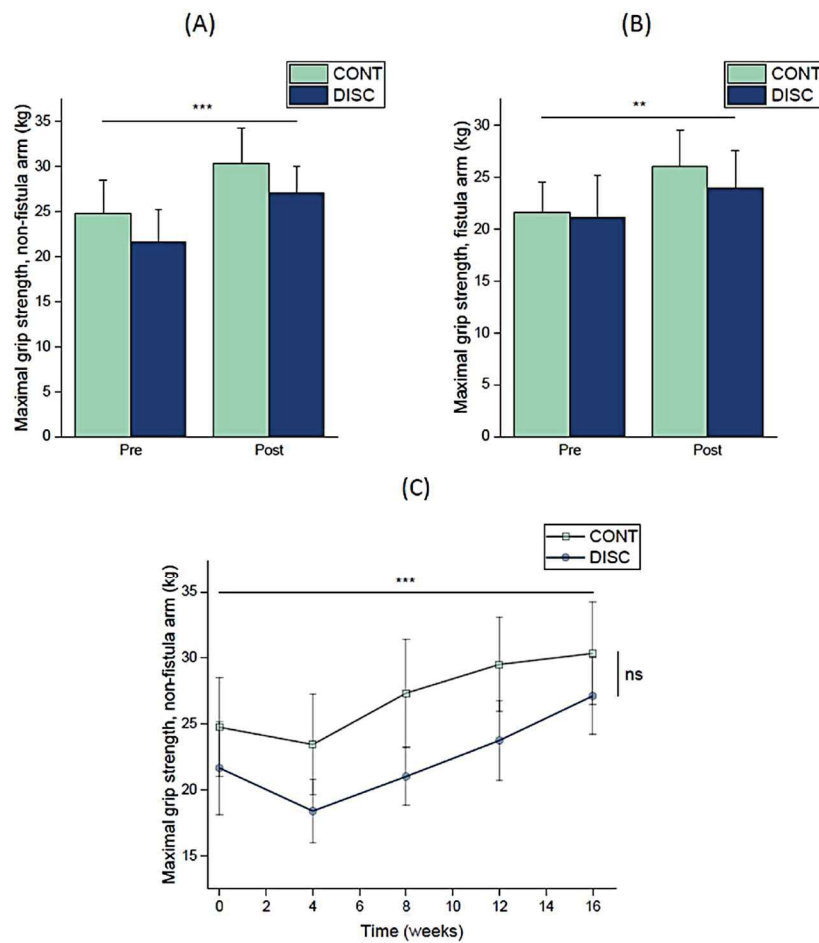


FIGURE 3. Evolution of maximal grip strength of (A) non-fistula and (B) fistula arm before and after training program and (C) non-fistula arm handgrip strength follow-up during training for each group.

Quadriceps isometric contraction force

Quadriceps maximal strength measured in isometric conditions for each leg is presented on **FIGURE 4**. Each training program was associated with major leg strength improvements ($p < 0.001$). As shown on **FIGURE 4 (A)**, dominant leg maximal extension strength increased by 31.3% in the CONT group and by 33.7% in the DISC group. Results of non-dominant leg testing depicted on **FIGURE 4 (B)** point that strength increased by 50.0% and by 62.3% respectively in the CONT and in the DISC group. No significant difference was found between groups.

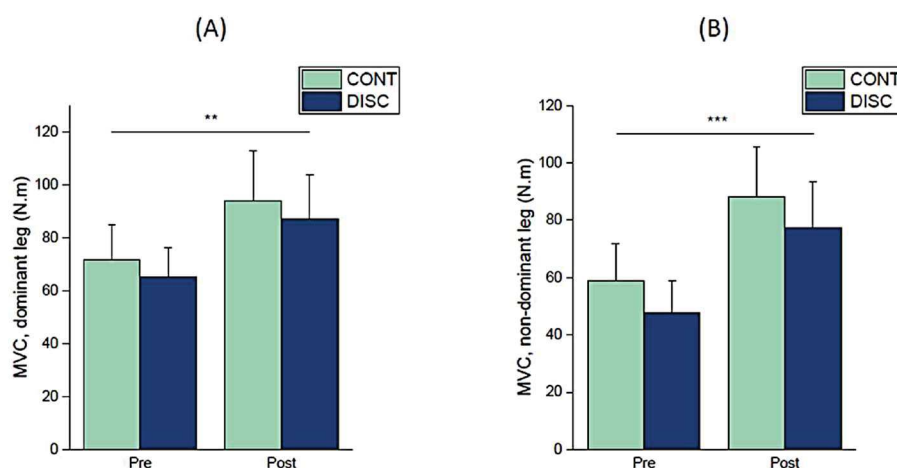


FIGURE 4. Evolution of maximal quadriceps strength of (A) dominant and (B) non dominant leg before and after training program for each group.

Discussion

The most important finding of this study is that combined training is efficient to improve the whole physical function of HD patients whatever the temporal repartition of resistance and endurance exercises, and that upper body training allows for a strong contralateral effect increasing the strength of the non-exercised arm.

The patients included in this study were young, as the mean age at the induction of hemodialysis in France is 63 years⁽³⁰⁾. They had a relatively high SPPB score at baseline, as the threshold for frailty is under 8⁽²⁸⁾. Between 3 and 9 on the 12-points score, patient is considered at risk of frailty⁽²⁸⁾. However, HD patients are known to be weaker and less active than healthy population of the same age⁽³¹⁾. In the study of Bean et al. involving more than 800 patients and where mean age was 74 years old, SPPB was over 10⁽³²⁾. Furthermore, physical abilities of ESRD patients rapidly decrease over time⁽³³⁾ and are strongly correlated to mortality⁽³⁴⁾.

Intradialytic exercise is recognized to be safe and no adverse event occurred during training. Adherence was high in both groups (>90%), and comparable to the findings of Chen et al.⁽³⁵⁾. All the patients clearly expressed their enthusiasm for intradialytic combined exercise practice. Combined training programs are the most efficient to improve functional performances, with higher adherence and acceptability than single-modality trainings⁽²⁵⁾. Although no significant difference in patients' motivation was highlighted between programs, adherence tended to be higher in the CONT group probably due to exercises diversity and lower duration of an exercise type during the same session.

Workload was relatively high at the end of the protocol, but hardly comparable to other studies, these data being rarely measured. Nevertheless, workload could be determinant for muscle adaptive response and was equivalent between our groups regarding the weights lifted. Nonetheless, DISC group tended to display a lower kilometer count than the CONT

group. This workload difference can be explained by lower rotation speeds compared to CONT group, in part due to the longer duration of exercises in the DISC group. Indeed, rotation speed was not imposed to patients and like most of the studies about intradialytic exercise, intensity was based on RPE ⁽³⁶⁾. This difference can also be justified by the lower adherence in the DISC group, and notably because sessions were mainly missed during endurance weeks.

Limited data are available to compare our SPPB results. In the study of Chen et al., patients had a lower SPPB score at baseline compared to our study, but mean age was over 70 years ⁽³⁵⁾. Authors found a 21.1% improvement in SPPB score after their strength training, higher than in our study (+14% in the CONT group and +17% in the DISC group), but their program lasted longer. Our results are in accordance with Thompson et al., who found a mean increase of 1.65 point and where patients' age was comparable ⁽²⁵⁾. SPPB improvement is in part explained by a better walking speed, highly predictive of mobility and daily activities ⁽³⁷⁾. Our results also indicate a mean reduction of 14% of time recorded during the sit-to-stand test and are in accordance with another study ⁽³⁸⁾.

HD population has an increased fracture frequency and display a high risk of fall ^{(39),(40)}. Thus, effectiveness of combined exercise interventions on balance performance is of clinical importance. Reference value for age-matched healthy population is around 29 seconds ⁽⁴¹⁾, confirming that HD patients included here displayed a poor balance. At the end of the program, single-leg standing performance was significantly increased in both groups. These results are hardly comparable to the literature due to lack of studies with similar interventions. The slight tendency for advanced improvements in the DISC group may be due to higher baseline values or to superior effects of alternated programs on balance that remain to be explored.

Muscle leg strength is also linked to the risk of fall, and increasing muscle strength seems to be effective to reduce fall frequency ⁽⁴²⁾. Quadriceps strength was converted into joint-torque to take account of the lever arm length and groups displayed similar values at baseline. Compared to the data from trials that have used a hand-held dynamometer, patients included in our study displayed similar quadriceps strength of dominant leg at baseline whereas they were younger ^{(29),(43)}. However, patients included in these two other studies were mostly males ^{(29),(43)}. The improvements in extension force measured here with a direct assessment method strongly confirm the effectiveness of intradialytic combined training to improve leg strength.

Maximal grip strength is also used in HD patients to detect sarcopenia ⁽⁴⁴⁾. In our study, measurements on the non-fistula arm indicated improvements in both groups (+22.6% in CONT group and +25.2% in the DISC group). To our knowledge, no data exists on grip strength of HD patients following combined training. Other exercise interventions found an increase ranging from 8 to 17% ⁽³⁶⁾ but the nature of exercises was totally different. Two studies with resistance

training protocols did not found significant increase in handgrip strength ^{(45),(46)}. However, contrarily to these studies, some resistance exercises in our protocol targeted specifically the hand flexors. Of note, dataset was collected at 5 time-points in the same conditions and interestingly, improvements occur late. Most of the time, training programs last between 8 and 12 weeks, whereas here, significant difference from baseline is only detectable at 12 weeks for the CONT group and at 16 weeks for the DISC group.

Handgrip strength was also significantly increased in the fistula arm which was not exercised. Strength increase was proved in the contralateral limb after unilateral training of the opposite limb, and this phenomenon is called contralateral strength training effect ^{(47),(48)}. Adaptations of fistula arm were certainly lower than in the exercised, non-fistula arm, but unexpectedly reached an amplitude which was functionally significant. Cross-body transfer to the untrained limb usually reaches 52% to 80% of the ipsilateral strength increase ^{(47),(49)}, patients showing the largest values. To explain the oversized contralateral effect in the CONT group, we analyzed the laterality of the patients. Most of them were right-handed, have the fistula on their non-dominant arm and trained their dominant side, allowing for maximal cross-body transfers ⁽⁵⁰⁾. Only three patients trained their non-dominant arm and all were in the DISC group, certainly explaining the smaller strength gains transfers (data not shown).

Among the debatable points of this study, we can firstly mention the small number of HD patients included, despite that the inclusion and exclusion criteria were not strict. Nevertheless, high significant differences between the beginning and the end of the training protocol were found, providing strong data for clinical practice. Secondly, although pre-post tests were separated by 16 weeks, we cannot exclude a learning effect that could have influenced performance changes ⁽⁵¹⁾.

Contrarily to our hypothesis, no interference phenomenon was detected as it was observed in healthy subjects ^{(19) (24)}. The absence of interference in the present study is undoubtedly related to the intensity of exercises and to the amount of training loads. The interference phenomenon is probably only observable when subjects perform higher training loads. However, we provide here robust and clinically relevant data on efficiency of combined training on the whole spectrum of physical fitness in a relatively young HD population. Intradialytic exercise being efficient and safe, a larger access to physical rehabilitation programs is expected as exercise programs are not yet adopted into standard practice for patients undergoing HD.

Conclusion

In summary, our study shows that the interference phenomenon does not seem to affect muscle adaptive response in this rehabilitation context. Combined training programs are associated with a high adherence from HD patients.

Whatever the temporal repartition of endurance and resistance exercises, combined trainings improve strength, balance and endurance of lower limbs of HD patients. Furthermore, practitioners may note that same-session combined training seems to favor patients' adherence thanks to lower exercises duration and greater diversity. A better adherence can indirectly increase the workload which is clinically determinant for adaptations amplitude. Upper body training on the non-fistula arm allows for cross-education of opposite limb, increasing strength in the non-exercised arm. This cross-body strength gains transfer predominantly operates in the weaker arm. Moreover, handgrip strength increase occurs late and may not be detectable in the first weeks of rehabilitation. The patients in this study had a relatively preserved physical function at the inclusion despite a high heterogeneity. These results required to be extended to a larger cohort, to older HD patients or displaying a more pronounced deconditioning. For the future, studies including biopsy or electromyography will also be required to investigate more precisely muscle structure and function in response to a combined exercise training.

Authors' contribution statement:

Henri Bernardi, Cécile Turc-Baron and Robin Candau conceived and designed the study. Laura Pavlin, Annie Rodriguez, Isabelle Ohresser, Martin Larivière and Cyril Portal conducted the experiments. Laura Pavlin and Annie Rodriguez collected the data and performed the analysis. Isabelle Ohresser and Jean-Paul Cristol contributed data and analysis tools. Laura Pavlin, Annie Rodriguez, Henri Bernardi, Cécile Turc-Baron and Robin Candau wrote the paper.

Statement of financial disclosure and conflict of interest:

Authors do not report any financial disclosure or conflict of interest.

Acknowledgments and funding source:

We would like to sincerely thank participants for their involvement in this study. The Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) and the Association Installation à Domicile Epurations Rénales (AIDER Santé) funded the PhD scholarship. We are also grateful to AIDER Santé staff for reading the manuscript and helpful discussions and also to the members of UMR866 for support. We thank C. Dubois for her helpful English corrections in the manuscript submitted for publication. The authors of this manuscript certify that they have complied with ethical guidelines for authorship and publishing in *Seminars in Dialysis*.

References

1. Cobo G, Gallar P, Cristina TG, Gioia D, Rashid A, Carlos J, Peter H. Clinical determinants of reduced physical activity in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *J Nephrol*. Published online 2014. doi:10.1007/s40620-014-0164-y
2. Teixeira CG, Duarte CMB, Prado CM, Albuquerque EC De, Andrade LB. Impact of chronic kidney disease on quality of life, lung function, and functional capacity. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;178:1-7. doi:10.1016/j.jped.2014.03.002
3. Magnard J, Deschamps T, Cornu C, Paris A, Hristea D. Effects of a six-month intradialytic physical ACTivity program and adequate NUTritional support on protein-energy wasting, physical functioning and quality of life in chronic hemodialysis patients : ACTINUT study protocol for a randomised controlled trial. *BMC Nephrol*. 2013;14(259):1-8.
4. O'Hare A, Tawney K, Bacchetti P, Johansen KL. Decreased Survival Among Sedentary Patients Undergoing Dialysis : Results From the Dialysis Morbidity and Mortality Study Wave 2. *Am J Kidney Dis*. 2003;41(2):447-454. doi:10.1053/ajkd.2003.50055
5. Knight EL, Ofsthun N, Teng M, Lazarus JM, Curhan GC. The association between mental health, physical function, and hemodialysis mortality. *Kidney Int Reports*. 2003;63:1843-1851.
6. Stack AG, Molony DA, Rives T, Tyson J, Murthy BVR. Association of physical activity with mortality in the US dialysis population. *Am J Kidney Dis*. 2005;45(4):690-701. doi:10.1053/j.ajkd.2004.12.013
7. Imamura H, Mizuuchi K, Oshikata R. Physical Activity and Blood Lipids and Lipoproteins in Dialysis Patients. *Int J Nephrol*. 2012;2012:1-6. doi:10.1155/2012/106914
8. Penny JD, Salerno FR, Brar R, Garcia E, Rossum K, McIntyre CW, Bohm CJ. Intradialytic exercise preconditioning : an exploratory study on the effect on myocardial functioning. Published online 2018:1-7. doi:10.1093/ndt/gfy376
9. Valenzuela PL, Alba A De, Pedrero-chamizo R, Morales JS, Cobo F, Botella A, González-gross M, Pérez M, Lucia A, Fleck SJ. Intradialytic Exercise : One Size Doesn ' t Fit All. 2018;9(July):1-8. doi:10.3389/fphys.2018.00844
10. Qiu Z, Zheng K, Zhang H, Feng J, Wang L, Zhou H. Physical Exercise and Patients with Chronic Renal Failure: A Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2017;2017:14-16. doi:10.1155/2017/7191826
11. Barcellos FC, Santos IS, Umpierre D, Bohlke M, Hallal PC. Effects of exercise in the whole spectrum of chronic kidney disease: A systematic review. *Clin Kidney J*. 2015;8(6):753-765. doi:10.1093/ckj/sfv099
12. Gomes Neto M, de Lacerda FFR, Lopes AA, Martinez BP, Saquetto MB. Intradialytic exercise training modalities on physical functioning and health-related quality of life in patients undergoing maintenance hemodialysis: systematic review and meta-analysis. *Clin Rehabil*. Published online 2018. doi:10.1177/0269215518760380
13. Jung T, Park S. Intradialytic Exercise Programs for Hemodialysis Patients. *Chonnam Med J*. 2011;47:61-65.
14. Johansen KL. Exercise and dialysis. *Hemodial Int*. 2008;12:290-300.
15. Gołębiowski T, Kusztal M, Weyde W, Dziubek W, Woźniowski M, Madziarska K, Krajewska M, Letachowicz K, Strembska B, Klinger M. A program of physical rehabilitation during hemodialysis sessions improves the fitness of dialysis patients. *Kidney Blood Press Res*. 2012;35(4):290-296. doi:10.1159/000335411
16. Rhee SY, Song JK, Hong SC, Choi JW, Jeon HJ, Shin DH, Ji EH, Choi E-H, Lee J, Kim A, Choi SW, Oh J. Intradialytic exercise improves physical function and reduces intradialytic hypotension and depression in hemodialysis patients. *Korean J Intern Med*. Published online 2017. doi:10.3904/kjim.2017.020
17. Kopple J, Storer T, Casburi R. Impaired Exercise Capacity and Exercise Training in Maintenance Hemodialysis Patients. *J Ren Nutr*. 2005;15(1):44-48. doi:10.1053/j.jrn.2004.09.022
18. Scapini KB, Bohlke M, Moraes OA, Rodrigues CG, Fs J, Sbruzzi G, Leguisamo CP, Sanches IC, Tourinho H, Irigoyen MC. Combined training is the most effective training modality to improve aerobic capacity and blood pressure control in people requiring haemodialysis for end-stage renal disease : systematic review and network meta-analysis. *J Physiother*. 2019;65(1):4-15. doi:10.1016/j.jphys.2018.11.008
19. Cadore EL, Izquierdo M. Concurrent Training in Elderly. Published online 2019:277-291.
20. Robineau J, Babault N, Piscione J, Lacombe M, Bigard AX. Specific Training Effects Of Concurrent Aerobic and Strength Exercises Depend On Recovery Duration. *J Strength Cond Res*. Published online 2016:672-683.
21. Hickson RC. Interference of Strength Development by Simultaneously Training for Strength and Endurance. *Eur J Appl Physiol*. 1980;263:255-263.
22. Schumann M, Rønnestad BR. *Concurrent Aerobic and Strength Training*.; 2019.
23. Cadore EL, Pinto RS, Lhullier FLR, Correa CS, Alberton CL, Pinto SS, Almeida AP V, Tartaruga MP, Silva EM, Kruel LFM, Alegre P, Alegre P. Physiological Effects of Concurrent Training in Elderly Men. *Int J Sport Med*. Published online 2010.
24. Cadore EL, Pinto RS, Bottaro M, Izquierdo M. Strength and Endurance Training Prescription in Healthy and Frail Elderly. 2014;5(3):183-195.
25. Thompson S, Klarenbach S, Molzahn A, Lloyd A, Gabrys I, Haykowsky M, Tonelli M. Randomised factorial mixed method pilot study of aerobic and resistance exercise in haemodialysis patients : DIALY-SIZE! Published online 2016. doi:10.1136/bmjopen-2016-012085
26. Byrne C, Faure C, Keene DJ, Lamb SE. Ageing , Muscle Power and Physical Function : A Systematic Review and Implications for Pragmatic Training Interventions. *Sport Med*. Published online 2016. doi:10.1007/s40279-016-0489-x
27. Monnin D, Gafner S, Allet L. Un test fonctionnel : la Short Physical Performance Battery (SPPB). *Kinesithérapie, la Rev*. Published online 1994:1-2. doi:10.1016/j.kine.2017.11.015
28. Guralnik JM, Simonsick EM, Ferrucci L, Glynn RJ, Berkman LF, Blazer DG, Scherr PA, Wallace RB. A short physical performance battery assessing lower extremity function: Association with self-reported disability and prediction of

- mortality and nursing home admission. *Journals Gerontol.* 1994;49(2). doi:10.1093/geronj/49.2.M85
29. Souweine JS, Boudet A, Chenine L, Leray H, Rodriguez A, Mourad G, Mercier J, Cristol JP, Hayot M, Gouzi F. Standardized Method to Measure Muscle Force at the Bedside in Hemodialysis Patients. *J Ren Nutr.* 2017;27(3):194-200. doi:10.1053/j.jrn.2017.01.017
 30. HAS HA de S. *Prise En Charge Des Patients Hémodialysés Chroniques.*; 2015.
 31. Johansen KL, Shubert T, Doyle J, Soher B, Sakkas GK, Kent-Braun JA. Muscle atrophy in patients receiving hemodialysis: Effects on muscle strength, muscle quality, and physical function. *Kidney Int.* 2003;63(1):291-297. doi:10.1046/j.1523-1755.2003.00704.x
 32. Bean JF, Leveille SG, Kiely DK, Bandinelli S, Guralnik JM, Ferrucci L. A Comparison of Leg Power and Leg Strength Within the InCHIANTI Study : Which Influences Mobility More ? *J Gerontol.* 2003;58A(8):728-733.
 33. Sutcliffe BK, Bennett P, Fraser SF, Bennett PN, Fraser SF, Mohebbi M. The deterioration in physical function of hemodialysis patients. *Hemodial Int.* Published online 2017. doi:10.1111/hdi.12570
 34. Sietsema KE, Amato A, Adler SG, Brass EP. Exercise capacity as a predictor of survival among ambulatory patients with end-stage renal disease. *Kidney Int Reports.* 2004;65:719-724.
 35. Chen JLT, Godfrey S, Ng TT, Moorthi R, Liangos O, Ruthazer R, Jaber BL, Levey AS, Castaneda-sceppa C. Effect of intra-dialytic , low-intensity strength training on functional capacity in adult haemodialysis patients : a randomized pilot trial. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;(January):1936-1943. doi:10.1093/ndt/gfp739
 36. Clarkson MJ, Bennett PN, Fraser SF, Warmington SA. Exercise Interventions for Improving Objective Physical Function in End-Stage Kidney Disease Patients on Dialysis : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Physiol Physiol.* Published online 2019.
 37. Guralnik J, Ferrucci L, Simonsick E, Salive M, Wallace R. Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med.* 1995;332(9):556-561.
 38. Johansen K, Francisco S, Painter P, Sakkas GK, Shubert TE. Effects of Resistance Exercise Training and Nandrolone Decanoate on Body Composition and Muscle Function among Patients Who Receive Hemodialysis: A Randomized, Controlled Trial. *J Am Soc Nephrol.* Published online 2006. doi:10.1681/ASN.2006010034
 39. Hosein A, Yekta A, Fatollahierad S, Sciences R, Hassabi M, Khosravi S. Fall Incidence and Risk Factors in Hemodialysis Patients Fall Incidence and Risk Factors in Hemodialysis Patients Hemodiyaliz Hastalarında Düşme İnsidansı ve Risk Faktörleri. 2016;(February 2017). doi:10.5262/tndt.2016.1003.08
 40. Goto NA, Weststrate ACG, Oosterlaan FM, Verhaar MC, Willems HC. The association between chronic kidney disease , falls , and fractures : a systematic review and meta-analysis. Published online 2020:13-29.
 41. Bohannon RW, Larkin PA, Cook AMYC, Gear J, Singer J. Decrease in Timed Balance Test Scores with Aging. 1984;64(7):1067-1070.
 42. Rubenstein LZ. Falls in older people : epidemiology , risk factors. *Age Ageing.* Published online 2006:37-41. doi:10.1093/ageing/af1084
 43. Souweine JS, Kuster N, Chenine L, Rodriguez A, Patrier L, Morena M, Badia E, Chalabi L, Raynal N, Ohresser I, Leray-moragues H, Mercier J, Hayot M, Quintrec M Le, Gouzi F, Cristol J. Physical inactivity and protein energy wasting play independent roles in muscle weakness in maintenance haemodialysis patients. *PLoS One.* Published online 2018:1-15.
 44. Slee A, Mckeaveney C, Adamson G, Kalanter-zadeh K, Mallett J, Maxwell AP, Mullan R, Bao MBB, Noble H, Donoghue DO, Porter S, Seres DS, Sheilds J, Bao MBB, Witham M, Bch BM, Reid J. Estimating the Prevalence of Muscle Wasting , Weakness , and Sarcopenia in. *J Ren Nutr.* Published online 2019:1-9. doi:10.1053/j.jrn.2019.09.004
 45. Sohng WJ, Yae K. Effects of Progressive Resistance Training on Body Composition , Physical Fitness and Quality of Life of Patients on Hemodialysis. 2012;42(7):947-956.
 46. Headley S, Germain M, Mailloux P, Mulhern J, Ashworth B, Burris J, Brewer B, Nindl B, Coughlin M, Welles R, Jones M. Resistance Training Improves Strength and Functional Measures in Patients With End-Stage Renal Disease. *Am J Kidney Dis.* 2002;40(2):355-364. doi:10.1053/ajkd.2002.34520
 47. Carroll TJ, Herbert RD, Munn J, Lee M, Gandevia SC, Timothy J, Herbert RD, Munn J, Lee M. Neural Changes Associated with Training Contralateral effects of unilateral strength training : evidence and possible mechanisms. *J Appl Physiol.* Published online 2006:1514-1522. doi:10.1152/japplphysiol.00531.2006.
 48. Cirer-Sastre R, Beltrán-Garrido J V, Corbi F. Contralateral Effects after Unilateral Strength Training : A Meta-Analysis Comparing Training Loads. *J Sport Sci Med.* 2017;(March):180-186.
 49. Green LA, Gabriel DA. The effect of unilateral training on contralateral limb strength in young , older , and patient populations : a meta-analysis of cross education. *Phys Ther Rev.* 2018;0(0):1-12. doi:10.1080/10833196.2018.1499272
 50. Farthing JP, Chilibeck PD, Binsted G. Cross-Education of Arm Muscular Strength Is Unidirectional in Right-Handed Individuals. *J Am Coll Sport Med.* Published online 2005. doi:10.1249/01.mss.0000177588.74448.75
 51. Overend T, Anderson C, Sawant A, Perryman B, Locking-Cusolito H. Relative and Absolute Reliability of Physical Function Measures in People with End-Stage Renal Disease. *Physiother Canada.* Published online 2010:122-128. doi:10.3138/physio.62.2.122

Synthèse

L'âge d'induction de l'hémodialyse en France étant autour des 63 ans¹⁵³, les 20 patients hémodialysés inclus dans cette étude étaient plutôt jeunes, avec un âge moyen de 54 ans. Leur fonction physique, évaluée par le biais du Short Physical Performance Battery (SPPB), était relativement préservée, bien que plus faible qu'une population saine de même âge¹⁹². Une grande partie de ces patients présentait cependant un score inférieur à 8, défini comme un stade de fragilité ; et une proportion significative d'entre eux présentait un score supérieur à 8 et était quand même considérée comme à risque de fragilité¹⁴⁷. De plus, la fonction physique des patients dialysés est connue pour décliner nettement plus rapidement que celle de la population générale de même âge⁴¹⁶.

Comme attendu, aucun évènement indésirable en lien avec l'exercice combiné réalisé pendant la dialyse n'est survenu. La motivation des patients à suivre le programme était excellente, avec plus de 90% des séances planifiées effectivement réalisées. Au total, les patients ont cumulé plus de 5300 kilomètres virtuellement parcourus avec le pédalier adapté au lit de dialyse. Le programme continu, combinant des exercices en aérobie et de résistance à chaque séance, était associé à une meilleure adhésion, potentiellement liée à la diversité des exercices mais aussi aux durées d'effort réduites pour une modalité donnée. Quoique non significative, cette tendance explique le plus grand nombre de kilomètres parcourus dans le groupe réalisant le programme continu. Les séances non réalisées du programme discontinu étaient principalement celles d'endurance, sans que la cause ne soit en lien avec le programme ou le type d'exercice.

Contrairement à notre hypothèse, la séparation temporelle des exercices d'endurance et de résistance au cours de la réhabilitation du patient hémodialysé n'a pas permis d'optimiser les gains fonctionnels obtenus après un programme de réhabilitation combinée continu. Le score au SPPB des deux groupes a augmenté de façon similaire en fin de programme. L'amplitude de cette amélioration correspond à ce qui a été décrit auparavant dans la littérature⁴²⁵. Une légère tendance en faveur d'une meilleure efficacité du programme de réhabilitation discontinu sur l'équilibre unipodal a été observée et mériterait de plus amples investigations. Chez l'Homme, l'amplitude de l'effet d'interférence est influencée à la fois par la fréquence d'entraînement, les temps de récupération et l'ordre des exercices, mais dépend principalement du volume de travail et de l'intensité des exercices. Il est ainsi fort probable que la valeur de ces paramètres ne soit pas suffisante pour induire un effet d'interférence dans le cadre de la réhabilitation du patient hémodialysé sur 16 semaines.

Les gains fonctionnels obtenus au cours de cette étude sont difficilement comparables à ceux rapportés dans la littérature en raison du manque de données sur la réhabilitation du patient dialysé. Les programmes y sont peu détaillés et les données physiologiques relatives à la fonction musculaire

sont rarement récoltées. Ainsi, il n'existe à notre connaissance aucune étude ayant réalisé le suivi longitudinal de la force de préhension au cours d'un programme per dialytique de réhabilitation combinée. Il est alors intéressant de noter que les améliorations significatives de ce paramètre ne sont détectables qu'en fin de programme, soit 16 semaines après le début de l'intervention. Ceci explique certainement pourquoi des études réalisées sur des durées plus courtes n'ont pas mis en évidence d'augmentation de la force maximale de préhension.

Cette donnée a d'autant plus d'intérêt qu'un effet controlatéral de grande amplitude semble opérer chez le patient hémodialysé dont seul le bras sans fistule est exercé. Le bras présentant la fistule était, dans le cadre de cette étude, généralement le bras non dominant. Cette configuration permet un transfert maximal des gains de force du côté dominant vers le côté non dominant¹²⁰. Dans le même sens, les 3 patients présentant une latéralité inverse et ayant entraîné leur bras non dominant avaient les valeurs de transfert de gains les plus faibles. De façon intéressante, la force maximale isométrique du quadriceps était associée à des gains très importants, particulièrement du côté non dominant, après le programme de réhabilitation. La symétrie des membres supérieurs et inférieurs est ainsi améliorée en fin de programme. L'amplitude des gains, mesurée de façon directe à l'aide de dynamomètres, confirme l'efficacité de la réhabilitation combinée pour améliorer les capacités de production de force.

Il serait intéressant d'élargir ces résultats à un plus grand nombre de patients et à des patients présentant un déconditionnement plus important, mais aussi d'investiguer de façon plus poussée les réponses structurales et morphologiques du muscle strié squelettique avec des techniques complémentaires. Néanmoins, les données récoltées au cours de cette étude permettent de mieux préciser les modalités optimales de réhabilitation du patient hémodialysé et de mieux cerner les composantes de la fonction physique impactées par ce type de programme.

Ces résultats soulignent ainsi plusieurs éléments directement applicables dans un contexte clinique :

- L'exercice combiné est associé à une haute adhésion des patients hémodialysés, confirmant l'importance de la diversité des exercices.
- Quelle que soit la répartition temporelle des exercices d'endurance et de résistance, l'exercice combiné améliore la condition physique globale.
- Plusieurs composantes de la motricité comme la force, l'équilibre et la résistance à la fatigue des membres inférieurs participent à l'augmentation des aptitudes fonctionnelles.

- La présence d'un effet controlatéral de grande amplitude souligne l'intérêt fonctionnel de l'entraînement du haut du corps même s'il ne peut se faire que sur le bras sans fistule.
- Les gains de force des membres supérieurs semblent opérer tardivement et ne sont détectables qu'en fin de programme.

Etude #2 : Faisabilité de l'exercice excentrique en position alitée

Rationnel scientifique et hypothèses

La réhabilitation par l'exercice combiné du patient hémodialysé est contre-indiquée dans le cas d'une intolérance à l'effort. La dépense énergétique liée aux exercices concentriques classiques demeure trop élevée lorsque le déconditionnement ou la fatigue du patient sont trop importants. Les patients souffrant d'insuffisance rénale terminale traités par hémodialyse présentent un profil particulier, avec à la fois une dénutrition marquée et un risque cardiovasculaire élevé lié à l'hypertension et au diabète souvent associés à la maladie rénale¹⁸. Dans ce cadre, l'exercice excentrique pourrait permettre de maintenir les aptitudes fonctionnelles des patients à moindre coût métabolique et cardiovasculaire, rendant éligible à la réhabilitation un plus grand nombre de patients que l'exercice concentrique.

Dans un contexte de limitations cardiorespiratoires à l'exercice, l'exercice excentrique présente un intérêt particulier. Pour rappel, l'action excentrique s'oppose à l'action concentrique en impliquant l'allongement actif du muscle. Sous l'effet d'une contrainte externe, comme un poids ou la force due à la gravité, la tension du muscle augmente tandis que les extrémités distales et proximales s'éloignent l'une de l'autre. A l'échelle moléculaire, cet allongement fait appel à l'action des composantes élastiques comme les structures tendineuses, la matrice extracellulaire et la machinerie contractile elle-même¹⁵⁰. L'exercice excentrique est ainsi associé à de faibles contraintes métaboliques et cardiovasculaires qui le rend accessible aux populations les plus déconditionnées ou présentant un risque cardiovasculaire majeur.

Cette modalité d'exercice est très bien tolérée par les patients souffrant d'insuffisance cardiaque, présentant des limitations respiratoires (BPCO) ou encore atteints de cancer^{28,277,350}. La pratique régulière de l'exercice excentrique chez ces patients permet des améliorations fonctionnelles notables qui interviennent de façon précoce chez les sujets naïfs : vitesse de marche, force des jambes, endurance, équilibre, masse musculaire,...^{28,61,227,261} La génération de courbatures apparaît comme fréquemment liée à la pratique de l'exercice excentrique, où les niveaux de forces développés sont tels que le muscle est sujet à des dommages, la douleur disparaissant au bout de quelques jours.

La pratique des exercices de réhabilitation pendant la dialyse permet de surveiller l'activité et aussi d'améliorer l'observance des patients qui, pour la plupart, ne consacrent pas de leur temps libre à la pratique d'exercice. Généralement, l'exercice excentrique se pratique en position semi-allongée et à ce jour, le pédalage excentrique en position allongée n'a pas encore été testé³⁵⁰. L'hémodialyse nécessitant la plupart du temps le maintien d'une position allongée, la faisabilité de l'exercice excentrique dans ces conditions fait l'objet de cette étude.

L'hypothèse principale est que le pédalage excentrique alité est perçu comme un effort peu fatiguant et qu'il est donc réalisable en position allongée. Les hypothèses secondaires sont que le pédalage excentrique alité (i) ne sollicite pas plus le système cardiovasculaire qu'en position semi-allongée (ii) permet de développer les mêmes puissances et (iii) ne génère pas de courbatures ou de douleur invalidantes. Enfin, nous nous proposons de tester l'efficacité du pédalage excentrique alité, avec l'hypothèse que ce type d'exercice génère des adaptations précoces, avec (i) une augmentation de la force maximale isométrique et (ii) une augmentation de la puissance maximale concentrique. La confirmation de ces hypothèses permettra d'envisager l'intégration du pédalage excentrique alité dans les programmes de réhabilitation des patients en insuffisance rénale terminale pendant la procédure d'hémodialyse.

Implication personnelle

J'ai personnellement participé à la conception et à la mise en place de l'étude, à la construction de l'ergomètre excentrique, à la rédaction du document destiné au Comité de Protection des Personnes, à la demande d'autorisation du comité d'éthique, à l'inclusion des volontaires sains, aux mesures fonctionnelles, aux séances d'entraînement excentrique, à l'acquisition et au traitement des données et à la rédaction de l'article dont je suis le premier auteur. Cet article est intitulé :

Feasibility and early efficiency of bed-cycling eccentric training: potential clinical applications

Il est actuellement soumis à l'*European Journal of Applied Physiology* dont l'impact factor est de 2,58.

Manuscrit

Feasibility and early efficiency of bed-cycling eccentric training: potential clinical applications

Laura Pavlin ^{Ph.D.S.}*, Florian Fernandez ^{M.S.}, Rauhiti Lowgreen ^{M.S.}, Isabelle Ohresser ^{R.D.}, Jean-Paul Cristol ^{M.D.}, Cécile Turc-Baron ^{M.D.}, Henri Bernardi ^{Ph.D.} and Robin Candau ^{P.U.}

* DMEM, UMR866, University of Montpellier, INRAE, Montpellier, France

† AIDER Santé, Montpellier, France

‡ Department of Biochemistry, University Hospital of Montpellier, Montpellier, France

Corresponding author: Laura Pavlin, laura.pavlin@inrae.fr

ABSTRACT

Purpose: This study aimed to evaluate feasibility and early efficiency of moderate bed-cycling eccentric training on healthy individuals, and establish whether this training modality could be implemented into bedridden patients' routine care.

Methods: This study was designed as longitudinal with pre-post exercise intervention measurements. The development of a bed-adapted eccentric ergometer allowed to conduct 5 training sessions during a 3 weeks period at increasing intensity on 11 healthy individuals. Force-speed relationship, maximal voluntary knee extension force and neural activation of all subjects were evaluated before and after the program.

Results: Five training sessions were sufficient to decrease the rate of perceived exertion whereas increase eccentric power output increased (210.1 ± 38.5 W to 293.8 ± 19.7 W). After training, maximal voluntary knee extension force had significantly improved in all subjects, with a mean increase of 17% (453.3 ± 40.1 to 531.4 ± 43.9 N). Analysis of EMG signal showed a mean improvement of 22% in neural activation of leg extensors muscles ($p < 0.05$). Maximal cycling power was also significantly higher (808.6 ± 81.3 to 869.5 ± 88.1 W) after the training program.

Conclusion: Taken together, these results show that moderate load eccentric bed cycling (i) was feasible and efficient, (ii) did not generate excessive fatigue nor develop major muscular or joint pain after training and (iii) allowed early force and power gains in healthy subjects.

Key words: negative work, exercise rehabilitation, bedridden patients.

Abbreviations:

ATP	Adenosine triphosphate
BMI	Body mass index
DOMS	Delayed onset muscle soreness
EMG	Electromyography
HR	Heart rate
MVC	Maximal voluntary isometric contraction force
PO	Power output
RBE	Repeated bout effect
RMS	Root Mean Square
RPE	Rate of perceived exertion

INTRODUCTION

In sedentary patients, exercise has numerous beneficial effects, maintaining lower limbs function and functional independency (Johansen 2008; Painter et al. 2000; Westhoff, Stemmerik, and Boshuizen 2000; Brown, Sinacore, and Host 1995). Cycling is the most common practice but concentric contractions generate high metabolic strains and cannot be safely performed by frail population and immobilized patients. Consequently, eccentric cycling, where pedals are driven by an engine and subjects have to brake their rotation, could be an attainable and efficient rehabilitation. This modality permits to achieve high workloads at low metabolic cost (Hoppeler 2016). Energy required for muscle lengthening is four to six-fold lower than for shortening (Bigland-Ritchie and Woods 1976; Abbott, Bigland, and Ritchie 1952; Perrey et al. 2001) thanks to mini-cycles of myosin binding without ATP (adenosine triphosphate) consumption (Vale and Milligan 2000) and to the wrapping of titin around actin (Oranchuk et al. 2019).

Eccentric exercise was shown to be affordable for patients with cardiorespiratory limitations (Besson et al. 2013; Paul C Lastayo et al. 2013). In the elderly, higher improvements in physical function were evidenced following an eccentric training compared to a concentric mode (Chen et al. 2017). In the elderly, improvements of strength and physical function were similar after an eccentric and a high-velocity training, whereas total work was lower in the eccentric training program (Leszczak et al. 2013). However,

eccentric modality is underused in rehabilitation, because contractions are often associated with micro-damages in fibers structure causing a Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS)(Vogt and Hoppeler 2014; Proske and Morgan 2001). However, muscle fibers can be preserved, as progressive workload increase confers an early protective effect to muscles and tendons (McHugh 2003; Lin et al. 2015; Hyldahl, Chen, and Nosaka 2017). When intensity is based on rate of perceived exertion (RPE), no pain has been reported (Besson et al. 2013; Paul C Lastayo et al. 2013). Fractioned practice seems to promote this “repeated bout effect” (RBE), allowing naive subjects to perform eccentric without DOMS (Vogt and Hoppeler 2014; Steiner et al. 2004). Feasibility and efficiency of eccentric training were evidenced in chronically ill patients but were not explored in a lying position (Hoppeler 2016; Paul C Lastayo et al. 2011; Steiner et al. 2004; Paul C Lastayo et al. 2013).

Facing an important need for bed practice exercise facilities, we designed a study protocol to explore the feasibility and the early efficiency of bed-cycling eccentric training, highlighting the early effects of eccentric cycling on healthy volunteers trained in a lying position similar to that adopted by bedridden patients. Progressive increment of workload and exercise duration was planned to practice eccentric cycling safely without DOMS. Power, force and speed outputs, RPE, DOMS and heart rate frequency were monitored during all sessions. Parameters of power-speed relationship, maximal voluntary contraction force and neural activation during maximal contraction were evaluated before and after training.

SUBJECTS, MATERIAL AND METHODS

Participants, study protocol and design

The study procedures complied with the Declaration of Helsinki and its later amendments on human experimentation and was approved by national ethics committee. 11 healthy volunteers, including 6 males, were recruited and gave written informed consent. They were normal active people without medical contraindication to practice physical activity. Participants were evaluated before and after the five training sessions at increasing intensity during a three weeks period.

Home-made eccentric ergometer

The construction of an ergometer was necessary due to the lack of commercially available eccentric ergometers. Inspired by a guide previously published (Martin and Elmer 2012), the ergometer was designed with a direct-drive motor for electric bikes fixed on a patient lift. The chain was linked to a SRM crankset equipped with bike pedals (**Fig.1**).

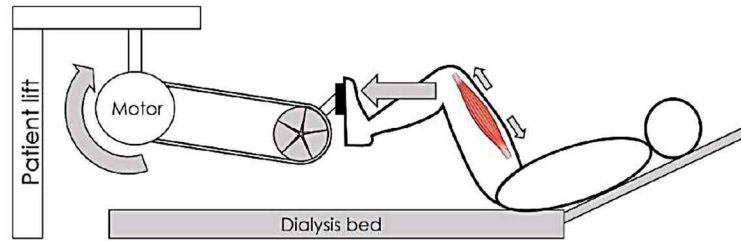


Fig.1 Functioning principle of the home-made eccentric ergometer adapted for bed-cycling

Training procedure

Before exercise, subjects were equipped with a heart rate transmitter belt and cycling shoes. They were installed on the eccentric ergometer and asked to avoid arm or trunk movements. The complete training procedure is provided in **Table 1**.

Session	Procedure
All	During each session participants were asked to perform passive anti-clockwise cycling (<i>i.e.</i> without braking phase) and to keep the speed rotation between 50 and 70 rpm during the five-minute warm-up.
1	During the first session, considered as a familiarization session, ergometer speed was successively set at 50, 60, 70 and 80 rpm and subjects were asked to brake the pedals movement until the speed decreased by 5 rpm during 15 seconds, before 30 seconds of cool-down in passive cycling. Exercise was repeated twice for each speed.
2	Ergometer speed was successively set at 50, 60, 70 and 80 rpm and subjects were asked to brake the pedals movement until the speed decreases by 10 rpm during 15 seconds, before 30 seconds of cool-down in passive cycling. Exercise was repeated 3 times for each speed.
3	Ergometer speed was successively set at 50, 60, 70 and 80 rpm and subjects were asked to brake the pedals movement until the speed decreases by 10 rpm during 15 seconds, before 30 seconds of cool-down in passive cycling. Exercise was repeated 4 times for each speed.
4	Ergometer speed was successively set at 50, 60, 70 and 80 rpm and subjects were asked to brake the pedals movement until the speed decreases by 10 rpm during 15 seconds, before 15 seconds of cool-down in passive cycling. Exercise was repeated 5 times for each speed.
5	Ergometer speed was successively set at 50, 60, 70 and 80 rpm and subjects were asked to brake the pedals movement until the speed decreases by 10 rpm during 15 seconds, before 15 seconds of cool-down in passive cycling. Exercise was repeated 6 times for each speed.
All	At the end of each session participants were allowed to cool down in passive cycling for 5 minutes.

Table 1 Complete training procedure used for each session during the study

Eccentric power and speed outputs

Power developed to brake and rotation speed of the pedals were monitored with a SRM 6 power control device (Schoberer Rad Meßtechnik GmbH).

Rate of perceived exertion

The rate of perceived exertion (RPE) was requested for each exercise. Participants were asked to quote their effort using a revised Borg scale (0 to 10 scale (Williams 2017)) and confirmed the value with an adjective: zero effort, extremely easy ...very hard and extremely hard.

Delayed Onset Muscle Soreness

Participants were asked to evaluate pain or muscle soreness they felt within the 48-hours following the session on a 10-point scale, with 0 corresponding to the absence of pain and 9 to an unbearable pain (McCormack, Horne, and Sheather 1988).

Concentric power-speed relationship

Subjects performed sprints on an instrumented ergometer (Monark 818E, Monark Exercise AB). After 5 minutes of warm-up, five consecutive sprints were recorded during 4 seconds with a sampling frequency of 200 Hz. Increasing loads were set successively at 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 N.kg⁻¹. Maximal power output was extracted from the power-speed relationship with a third-order polynomial regression according to the method previously published (Arsac, Belli, and Lacour 1996).

Maximal voluntary isometric contraction force

Before and after the training program, maximal voluntary isometric contraction force (MVC) was measured during knee extension with a handheld dynamometer (Microfet2, Hoggan Health). Dynamometer was fixed behind the subject and an inelastic strap was used to link the leg, according to the method previously published (Souweine et al. 2017). Before measurements, subjects were allowed to perform two trial contractions. After one minute rest, subjects performed 3 maximal contractions of 4 seconds separated by one minute rest. Maximal value was retained as MVC (100%).

Neural activation during maximal isometric contraction

Skin on the quadriceps muscles of the left leg was shaved and prepared to ensure that skin impedance was lower than 5 k Ω . Disposable surface electrodes (EL501, Biopac Systems Inc.) were positioned on the *vastus medialis*, *rectus femoris* and *vastus lateralis* with an intrapair distance of 20 mm, according to the method previously published (Rainoldi, Melchiorri, and Caruso 2004). Subjects performed 2 contractions at 25%, 2 contractions at 50% and 2 contractions at 75% of MVC (Drechsler, Cramp, and Scott 2006). Surface electromyography (EMG) was recorded with a 3-ways research system (MP150, Biopac Systems Inc.). The Root Mean Square (RMS) method was used for smoothing with the *AcqKnowledge* software. EMG_i – force relationships were obtained from the values of the four contraction forces, using a linear regression model.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using StatView®. Each quantitative parameter was presented as mean \pm standard error of the mean (SEM) or as median and quartiles if normality was not verified. Descriptive analyses were carried out for subjects' characteristics and DOMS values. When appropriate, a repeated measures ANOVA, a Friedman ANOVA or a pairwise Wilcoxon test was performed. A result was considered as significant when p-value was lower than *: 0.05, **: 0.01 and ***: 0.001.

RESULTS

Subjects

Characteristics of the 11 subjects are presented in **Table 2**. Briefly, mean age was 40.2 ± 4.0 years and mean body mass index (BMI) was 23.0 ± 0.7 kg.m⁻².

Subject	Gender	Age (years)	Height (m)	Weight (kg)	BMI
1	Male	53	1.72	77	26.0
2	Male	24	1.74	70	23.1
3	Male	53	1.72	67	22.6
4	Male	32	1.76	85	27.4
5	Male	24	1.85	82	24.0
6	Male	51	1.76	73	23.6
7	Female	24	1.77	70	22.3
8	Female	51	1.57	48	19.5
9	Female	55	1.74	67	22.1
10	Female	31	1.60	53	20.7
11	Female	44	1.65	58	21.3
<i>Mean \pm SEM</i>		40.2 \pm 4.0	1.72 \pm 0.02	68.2 \pm 3.5	23.0 \pm 0.7

Table 2 Characteristics of subjects at the beginning of the study

Tolerance to training

Subjects were highly compliant with training procedures, easily performed reverse pedaling and all exercises were well-tolerated. Heart rate (HR) at rest was 67 ± 1 bpm and during exercise, peak HR increased to 97 ± 1 bpm (**Fig.2**). Peak HR did not exceed 100 bpm. Mean increase was about 29 ± 1 bpm between resting and exercise.

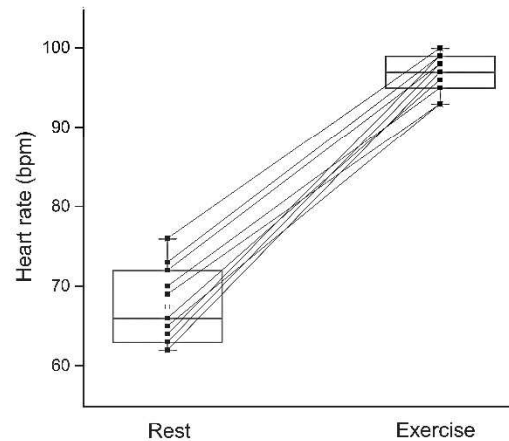


Fig.2 Heart rate frequency group data during rest and exercise

The RPE is depicted on **Fig.3a**, and the familiarization session (Session 1) was not taken into account for data analysis. Inter-individual variability of perceived exertion was high for the same exercise, but values were consistent between sessions for the same subject. RPE significantly increased with speed in every training session. It remained low ($< 5/10$) but increased when subjects had to brake to 70rpm, the hardest task. No effect of training was observed on subjects' RPE under 60rpm, but training significantly decreased RPE by approximately 17,5 % when braking to 70rpm. Moreover, global RPE for one entire session, including all exercise speeds, was significantly lower with training.

Mean power outputs (PO) are presented in **Fig.3b**. Workloads achieved during eccentric cycling were high no matter the exercise and study time-point, and significantly increased with speed. At the beginning of the study, mean value obtained was about 50W and maximal value plateaued at 540W. At the end of training, minimal value was close to 100W and maximal value reached 700W. Workload was significantly different in-between the sessions at 60rpm (210.1 ± 38.5 W compared to 293.8 ± 19.7 W). No significant change was found at other speeds. Lower work reproducibility corresponded to the fastest speed. The relationships between PO and RPE during session 2 and 5 are depicted in **Fig.3c**. Slope of linear fitting curve significantly increased ($p < 0.001$, +139%) after training program.

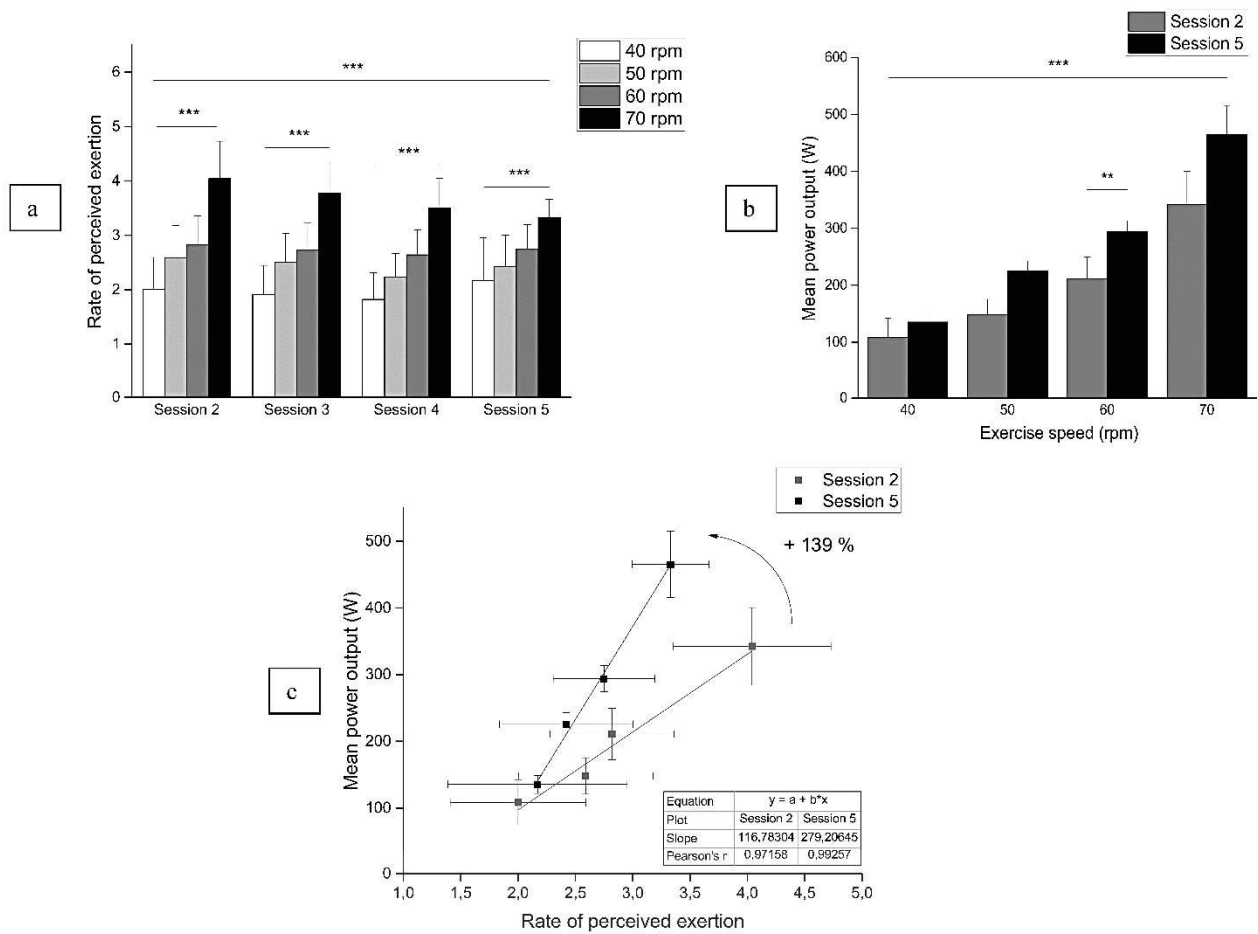


Fig.3 a: Evolution of rate of perceived exertion (RPE) during the training program at each exercise speed **b:** Eccentric power output data during the second and the fifth session at each exercise speed **c:** Evolution of the power output-rate of perceived exertion relationship between the second and the fifth session

Six subjects experienced DOMS. As presented in **Table 3**, all sessions generated DOMS for 1 to 3 subjects. DOMS values remained low, as maximal score was 3. For each session, mean DOMS value was very low (<1), because most of the subjects did not feel any muscular or joint pain.

	Session 1	Session 2	Session 3	Session 4	Session 5
Subjects with DOMS	6				
Minimum pain value	1	1	2	1	1
Maximum pain value	1	3	2	3	1

Table 3, Delayed Onset Muscle Soreness (DOMS) expressed in number of subjects with pain and minimal/maximal pain values

Effects on concentric sprint-cycling performance

Maximal power output was extracted from power-speed relationship (**Fig.4a**). Training significantly increased maximal power output (**Fig.4b**). Mean improvement was about 8.5%, corresponding to a 74W increase in the maximal power developed during sprints.

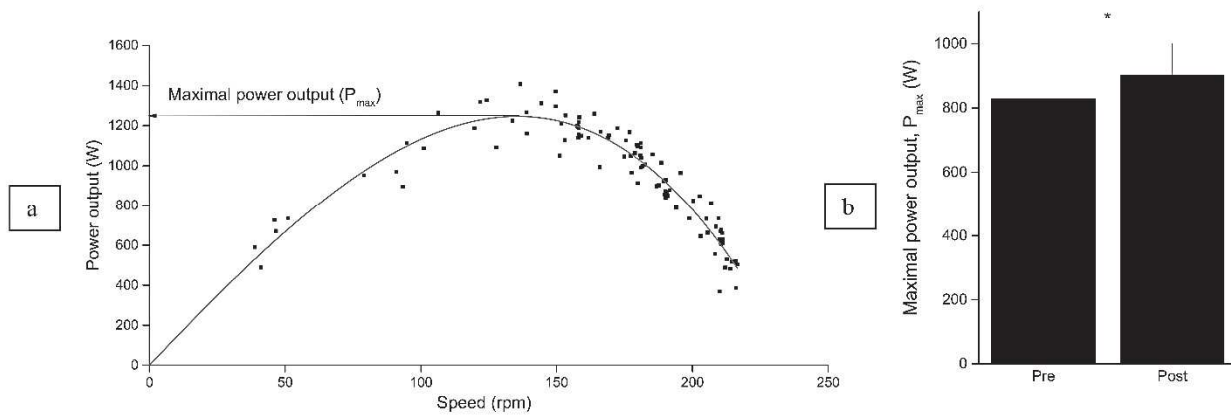


Fig.4a Example of power-speed relationship of one subject. Curve represents the third order polynomial regression used to extrapolate maximal power output (P_{max}) **b**: Evolution of maximal power output (P_{max}) before and after the training program

Effects on isometric contraction force

Results of MVC presented on **Fig.5** show that MVC significantly improved after training. Mean improvement was about 78N, corresponding to a 17% increase in force from baseline. Integrated EMG during MVC shows a significant increase (+22%) after training.

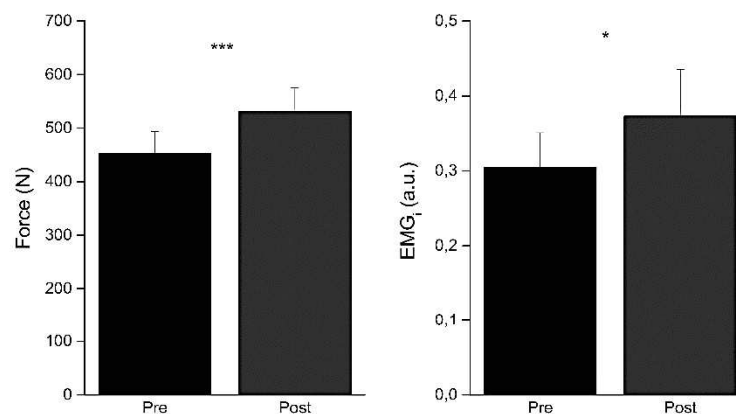


Fig.5 Evolution of maximal voluntary isometric contraction force (MVC, left panel) and integrated EMG signal (EMG_i, right panel) during isometric knee extension

Relative EMG-Force relationship shifts above the curve obtained before the program of eccentric cycling and the area under the EMG_i-Force curve was significantly increased by 5% after training ($p < 0.05$) (**Fig.6**).

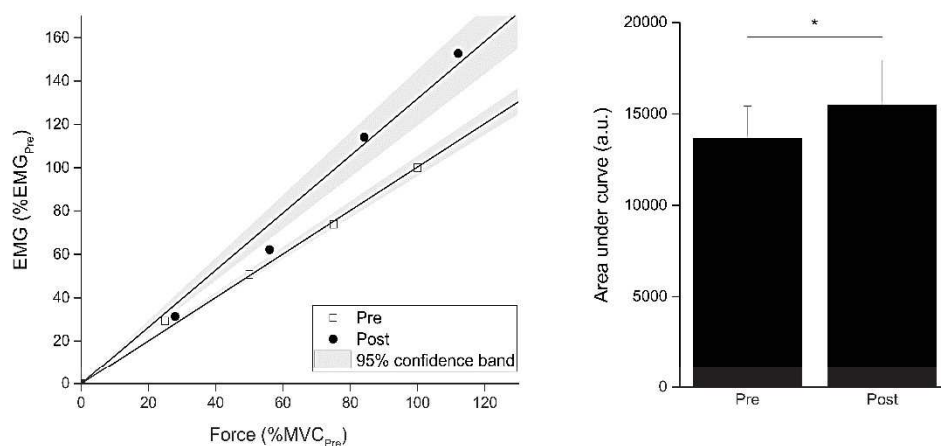


Fig.6 Left panel: Example of EMGi-Force relationship curves for one subject before and after the training program
 Right panel: Evolution of area under the EMGi-Force curves before and after the training program

DISCUSSION

Ergometer was designed for hospital bed-cycling. Previously developed eccentric ergometers were developed for semi-recumbent practice (Martin and Elmer 2012; Elmer, Danvind, and Holmberg 2012; Hoppeler 2016; Lewis 2012; Rocha Vieira et al. 2011). Subjects had no difficulty to stay in a lying position without moving arms and trunk. With most of patients carrying a high cardiovascular risk, the HR frequency increase during exercise must be limited. We report a modest 30bpm increase, and peak HR did not exceed 100bpm. Our results are in accordance with Chasland's study (Chasland et al. 2017), and consistent with previous observations (Lewis 2012; Perrey et al. 2001). Power outputs reached in the present study were relatively high compared to classical concentric cycling exercise, extending the results of previous studies performed in a semi-recumbent position (P C Lastayo et al. 2000; Paul C Lastayo, Ewy, et al. 2003). Eccentric power outputs are rarely measured, workload being usually estimated from oxygen consumption or from a concentric performance (Steiner et al. 2004; Laroche et al. 2013). To our knowledge, only two studies used a system like SRM (Leong et al. 2014; Lewis 2012). Compared to our data, power outputs were lower during familiarization sessions, due to lower rotation speeds.

After five training sessions, participants achieved higher workload for a given RPE. The relationship between PO and RPE was improved and gains were higher in eccentric (+29,6% in maximal eccentric PO) compared to isometric conditions (+17% in MVC) and were even greater compared to concentric type exercises (+8% in maximal concentric power). It was previously suggested that gains were specific to contraction mode and movement velocity (M Roig et al. 2009). These functional gains specific to the

eccentric type appear valuable in a clinical context since eccentric movements are required to support body weight, particularly during downhill activities to ensure balance and slow down. It was demonstrated that efficiency of eccentric training to decrease fall risk was at least equal (Paul C Lastayo et al. 2017), indeed higher (Paul C Lastayo, Ewy, et al. 2003) than traditional concentric training by specifically improving eccentric strength. Transferability of gains is of major importance for frail patients. Major isometric strength gains following eccentric training were demonstrated (M Roig et al. 2009) but to our knowledge, this is the first report of an early increased MVC in non-athletes. Similar values were found in a recumbent position with longer programs (Paul C Lastayo, Lewek, et al. 2003; Paul C Lastayo et al. 2013, 2011; Paul C Lastayo, Ewy, et al. 2003; P C Lastayo et al. 1999). However, leg muscle power was shown to be a better determinant of physical performance than isometric strength (Bean et al. 2003; Reid and Fielding 2012). Eccentric training in young individuals improved maximal cycling power after 8 weeks of training (Leong et al. 2014). In our study, maximal PO during sprints was significantly improved, extending previous results that early adaptive responses occur following eccentric exercise in a healthy population.

The force-EMGi relationship curve shifted above pre-training curve. As a 5% higher neural activation is involved to develop the same MVC after training, it indicates that a slight impairment in neuromuscular efficiency occurs during isometric contractions. Excitation-contraction coupling efficiency was previously shown to be transiently altered after eccentric, probably due to changes in membrane excitability or conduction velocity (Nasrabadi et al. 2018). However, here, the great isometric strength gains suggest that local nervous adaptations exceed contractile function impairment. These results also mean that strength gains result in part from a neural drive optimization through a better motor units recruitment/a higher discharge rate of active motor units or from diminished inhibitory reflex loops. According to Kraemer, these improvements could also be related to the synchronized activation of agonistic, synergistic and antagonistic muscles (Kraemer, Fleck, and Evans 1996). Motor learning could have improved neural drive of leg muscles to resist against the dynamometer, increasing production force capacity through an efficient activation of muscles involved in movement execution (Wulf, Shea, and Lewthwaite 2010; Brueckner, Kiss, and Muehlbauer 2018).

Workload was progressively increased, but most of our subjects experienced DOMS. They reported pain felt during daily eccentric movements like going downstairs. Subjects are differently sensitive to DOMS, and immobilized patients might be more fragile. There is no evidence that gender or age are determinants of DOMS sensitivity, but subjects performing downhill running and regular cycling did not report any pain whereas less active people were subjected to DOMS. These practices can induce a RBE and may explain the differential subjects' sensitivity. Some factors seem to promote DOMS and importance of speed was previously evidenced (Hoppeler 2016). Low velocity must be strongly advised to facilitate coordination and avoid damage. High velocities induce a disorganized muscular work in favor of a greater elastic component and joint solicitation (Elmer et al. 2010). However, in other studies, patients also experienced DOMS after the first session in a comparable extent of our group whereas rotation speed was below 60rpm (Besson et al. 2013; Leong et al. 2014).

Workload has a major role and must be measured to ensure proper intensity and even though DOMS pain values were low, our program can be improved. Our training procedures emerged from current recommendations, but most of the procedures are poorly described (Marc Roig, Shadgan, and Reid 2008). As familiarization sessions are key steps to confer RBE, a periodization model was suggested to safely introduce eccentric (Harris-Love et al. 2017). Further studies conducted on healthy volunteers including these recommendations, controlling precisely workload and specially focused on DOMS, are needed to establish the mechanisms underpinning RBE and adequate eccentric intensity to avoid DOMS (Hyldahl, Chen, and Nosaka 2017).

CONCLUSION

In summary, our study shows that bed-cycling eccentric training is feasible, that adaptations to bed-cycling eccentric training occur in the early stage of practice and that strength and power gains following eccentric cycling are transferable to others contraction modalities, *i.e.* concentric and isometric. Interestingly, most of the daily movements include an eccentric, a concentric and an isometric phase, and daily falls in frail people are most of the time attributable to a lack of balance during the eccentric phase. Eccentric movements are also prominent during downhill exercises like going down the stairs or sit on a seat, and the inability to brake the body weight considerably limits functional independence and quality of life. Thus, the specificity of eccentric regimen constitutes a promising exercise mode for clinical applications since training can be safely perform in a lying position and is associated to an early efficiency on muscle function. Transferability of gains to concentric and isometric modalities will allow to improve whole leg function and positively impact physical abilities in a frail population.

Acknowledgments:

We would like to sincerely thank participants for their involvement in this study. We are also grateful to AIDER Santé staff for reading the manuscript and helpful discussions and also to the members of UMR866 for support. We thank M. Combettes for ergometer assembly and C. Dubois for her helpful English corrections in the manuscript submitted for publication.

Author Contribution Statement:

LP, IO, JPC, CTB, HB and RC conceived and designed research. LP, FF and RL conducted experiments. IO, JPC, CTB and RC provided analysis tools. LP, FF, RL and HB analyzed data. LP, HB and RC wrote the manuscript. All authors read and approved the manuscript.

Funding: The Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) and the Association Installation à Domicile Epurations Rénales (AIDER Santé) funded the PhD scholarship of LP. No additional funding was received for conducting this study.

Conflicts of interest/Competing interests: The authors declare they have no financial disclosure, conflict of interest or competing interests.

Availability of data and material: Data and material used in this work are available upon request.

Code availability: Not applicable.

Ethics approval: The study procedures complied with the Declaration of Helsinki and its later amendments on human experimentation and was approved by a national research ethics committee (CPP-NO1, France). Subjects gave written informed consent to participate to this study as healthy volunteers.

Standards of reporting: The authors of this manuscript certify that they have complied with ethical guidelines for authorship and publishing in the European Journal of Applied Physiology.

REFERENCES

- Abbott, B.C., Brenda Bigland, and J.M. Ritchie. 1952. "The Physiological Cost of Negative Work." *Journal of Physiology* 117: 380–90.
- Arsac, Laurent M, Alain Belli, and Jean-René Lacour. 1996. "Muscle Function during Brief Maximal Exercise : Accurate Measurements on a Friction-Loaded Cycle Ergometer." *European Journal of Applied Physiology* 74: 100–106.
- Bean, Jonathan F, Suzanne G Leveille, Dan K Kiely, Stephania Bandinelli, Jack M Guralnik, and Luigi Ferrucci. 2003. "A Comparison of Leg Power and Leg Strength Within the InCHIANTI Study : Which Influences Mobility More?" *Journal of Gerontology* 58A (8): 728–33.
- Besson, D, C Joussain, V Gremeaux, C Morisset, Y Laurent, J Casillas, and D Laroche. 2013. "Eccentric Training in Chronic Heart Failure : Feasibility and Functional Effects . Results of a Comparative Study." *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 56 (1): 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2013.01.003>.
- Bigland-Ritchie, Brenda, and Joseph J Woods. 1976. "Integrated Electromyogram and Oxygen Uptake during Positive and Negative Work." *Journal of Physiology*, no. 260: 267–77.
- Brown, M, DR Sinacore, and HH Host. 1995. "The Relationship of Strength to Function in the Older Adult." *The Journals of Gerontology Series A* 50 (A): 55–59.
- Brueckner, Dennis, Rainer Kiss, and Thomas Muehlbauer. 2018. "Associations Between Practice-Related Changes in Motor Performance and Muscle Activity in Healthy Individuals : A Systematic Review." *Sports Medicine* 4 (9).
- Chasland, Lauren C, Daniel J Green, Andrew J Maiorana, Kazunori Nosaka, Andrew Haynes, Lawrence G Dembo, and Louise H Naylor. 2017. "Eccentric Cycling : A Promising Modality for Patients with Chronic Heart Failure," no. 31: 646–51. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001151>.
- Chen, Trevor Chung-ching, Wei-chin Tseng, Guan-ling Huang, Hsin-lian Chen, Kuo-wei Tseng, Kazunori Nosaka, and Trevor Chung-ching Chen. 2017. "Superior Effects of Eccentric to Concentric Knee Extensor Resistance Training on Physical Fitness, Insulin Sensitivity and Lipid Profiles of Elderly Men." *Frontiers in Physiology* 8 (2019): 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00209>.
- Drechsler, Wendy I, Mary C Cramp, and Oona M Scott. 2006. "Changes in Muscle Strength and EMG Median Frequency after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction." *European Journal of Applied Physiology*. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0311-9>.
- Elmer, Steven J, Jonas Danvind, and Hans-Christer Holmberg. 2012. "Development of a Novel Eccentric Arm Cycle Ergometer for Training the Upper Body." *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 206–11. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013c318269c79c>.

- Elmer, Steven J, Matthew L Madigan, Paul C Lastayo, and James C Martin. 2010. "Clinical Biomechanics Joint-Specific Power Absorption during Eccentric Cycling." *Clinical Biomechanics* 25 (2): 154–58. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2009.10.014>.
- Harris-Love, Michael O, Bryant A Scamon, Tomas I Gonzales, Haniel J Hernandez, Donte Pennington, and Brian M Hoover. 2017. "Eccentric Exercise Program Design : A Periodization Model for Rehabilitation Applications." *Frontiers in Physiology* 8 (February): 1–16. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00112>.
- Hoppeler, Hans. 2016. "Moderate Load Eccentric Exercise ; A Distinct Novel Training Modality." *Frontiers in Physiology* 7 (483). <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00483>.
- Hyldahl, Robert D, Trevor C Chen, and Kazunori Nosaka. 2017. "Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect." *Exercise and Sport Sciences Reviews* 45 (1): 24–33.
- Johansen, Kirsten L. 2008. "Exercise and Dialysis." *Hemodialysis International* 12: 290–300.
- Kraemer, William J, Steven John Fleck, and William J. Evans. 1996. "Strength and Power Training: Physiological Mechanisms of Adaptation." *Exercise and Sport Sciences Reviews*.
- Laroche, Davy, Charles Jousain, Claire Espagnac, Claire Morisset, Nicolas Tordi, Vincent Gremeaux, and Jean-marie Casillas. 2013. "Is It Possible to Individualize Intensity of Eccentric Cycling Exercise From Perceived Excretion on Concentric Test ?" *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 94 (8): 1621–27. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2012.12.012>.
- Lastayo, P C, D J Pierotti, J Pifer, H Hoppeler, and S L Lindstedt. 2000. "Eccentric Ergometry : Increases in Locomotor Muscle Size and Strength at Low Training Intensities," 1282–88.
- Lastayo, P C, T E Reich, M Urquhart, H Hoppeler, and S L Lindstedt. 1999. "Chronic Eccentric Exercise: Improvements in Muscle Strength Can Occur with Little Demand for Oxygen," 611–15.
- Lastayo, Paul C, Gordon A Ewy, David D Pierotti, Richard K Johns, and Stan Lindstedt. 2003. "The Positive Effects of Negative Work : Increased Muscle Strength and Decreased Fall Risk in a Frail Elderly Population." *Journal of Gerontology* 58A (5): 419–24. <https://doi.org/10.1093/gerona/58.5.M419>.
- Lastayo, Paul C, Stephanie Larsen, Sheldon Smith, and Lee Dibble. 2011. "The Feasibility and Efficacy of Eccentric Exercise with Older Cancer Survivors : A Preliminary Study" 33 (3): 135–40.
- Lastayo, Paul C, Michael D Lewck, Lynn Snyder-mackler, Trude Reich, and Stan L Lindstedt. 2003. "Eccentric Muscle Contractions : Their Contribution to Injury, Prevention, Rehabilitation, and Sport." *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*, no. 1: 557–71.
- Lastayo, Paul C, Robin Marcus, Lee Dibble, Fernando Frajacom, and Stan Lindstedt. 2013. "Eccentric Exercise in Rehabilitation : Safety, Feasibility, and Application." *Journal of Applied Physiology* 116: 1426–34. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00008.2013>.
- Lastayo, Paul C, Robin Marcus, Leland Dibble, Bob Wong, and Ginette Pepper. 2017. "Eccentric versus Traditional Resistance Exercise for Older Adult Fallers in the Community : A Randomized Trial within a Multi-Component Fall Reduction Program." *BMC Geriatrics* 17 (149): 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12877-017-0539-8>.
- Leong, C H, W J Mcdermott, S J Elmer, and J C Martin. 2014. "Chronic Eccentric Cycling Improves Quadriceps Muscle Structure and Maximum Cycling Power." *International Journal of Sports and Medicine* 35: 559–65.
- Leszczak, Timothy J, Jacilyn M Olson, Jesse Stafford, and Ro Di Brezzo. 2013. "Early Adaptations to Eccentric and High-Velocity Training on Strength and Functional Performance in Community-Dwelling Older Adults." *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 442–48.
- Lewis, Michael C. 2012. "The Feasibility of Eccentric Cycling as a Training Modality for Increasing Quadriceps Strength at Low Cardiovascular Cost."
- Lin, Min-Ju, Trevor Chung-Ching Chen, Hsin-lian Chen, Bo-Han Wu, and Kazunori Nosaka. 2015. "Muscle Damage Protection by Low-Intensity Eccentric Contractions for the Knee Extensors and Flexors." *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 1–36.
- Martin, James C, and Steven J Elmer. 2012. "Construction of an Isokinetic Eccentric Cycle Ergometer for Research and Training." *Journal of Applied Biomechanics*.
- McCormack, Heather M, David J de L Horne, and Simon Sheather. 1988. "Clinical Applications of Visual Analogue Scales : A Critical Review." *Psychological Medicine* 18: 1007–19. <https://doi.org/10.1017/S0033291700009934>.
- McHugh, Malachy P. 2003. "Recent Advances in the Understanding of the Repeated Bout Effect : The Protective Effect against Muscle Damage from a Single Bout of Eccentric Exercise." *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 13: 88–97.
- Nasrabadi, Razi, Zahra Izanloo, Ali Sharifnezad, Mohammad Reza Hamedinia, and Nosratollah Hedayatpour. 2018. *Muscle Fiber Conduction Velocity of the Vastus Medialis and Lateralis Muscle after Eccentric Exercise Induced- Muscle Damage. Journal of Electromyography and Kinesiology*. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2018.06.008>.
- Oranchuk, Dustin J, Adam G Storey, R Nelson, and John B Cronin. 2019. "Scientific Basis for Eccentric Quasi-Isometric Resistance Training : A Narrative Review," 2846–59.

- Painter, Patricia, Laurie Carlson, Susan Carcy, Steven M Paul, and Jeffrey Myll. 2000. "Physical Functioning and Health-Related Quality-of-Life Changes With Exercise Training in Hemodialysis Patients." *American Journal of Kidney Diseases* 35 (3): 482–92.
- Perrey, S, A Betik, R Candau, J D Rouillon, and R L Hughson. 2001. "Comparison of Oxygen Uptake Kinetics during Concentric and Eccentric Cycle Exercise." *Journal of Applied Physiology* 91: 2135–42.
- Proske, U, and D L Morgan. 2001. "Muscle Damage from Eccentric Exercise : Mechanism, Mechanical Signs, Adaptation and Clinical Applications." *Journal of Physiology* 357 (2): 333–45.
- Rainoldi, A, G Melchiorri, and I Caruso. 2004. "A Method for Positioning Electrodes during Surface EMG Recordings in Lower Limb Muscles." *Journal of Neurosciences Methods* 134: 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2003.10.014>.
- Reid, Kieran F, and Roger A Fielding. 2012. "Skeletal Muscle Power: A Critical Determinant of Physical Functioning In Older Adults." *Exerc Sport Sci Rev.* 40 (1): 4–12. <https://doi.org/10.1097/JES.0b013e31823b5f13.Skeletal>.
- Rocha Vieira, Danielle Soares, Jacinthe Baril, Ruddy Richard, Hélène Perrault, Jean Bourbeau, and Tanja Taivassalo. 2011. "Eccentric Cycle Exercise in Severe COPD : Feasibility of Application." *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, no. 514: 270–74. <https://doi.org/10.3109/15412555.2011.579926>.
- Roig, M, K O Bricn, G Kirk, R Murray, P Mckinnon, B Shadgan, and W D Reid. 2009. "The Effects of Eccentric versus Concentric Resistance Training on Muscle Strength and Mass in Healthy Adults : A Systematic Review with Meta-Analysis," 556–68. <https://doi.org/10.1136/bjism.2008.051417>.
- Roig, Marc, Babak Shadgan, and W Darlene Reid. 2008. "Eccentric Exercise in Patients with Chronic Health Conditions : A Systematic Review." *Physiotherapy Canada* 60 (2). <https://doi.org/10.3138/physio.60.2.146>.
- Souweine, Jean Sébastien, Agathe Boudet, Leila Chenine, Helene Leray, Annie Rodriguez, Georges Mourad, Jacques Mercier, Jean Paul Cristol, Maurice Hayot, and Fares Gouzi. 2017. "Standardized Method to Measure Muscle Force at the Bedside in Hemodialysis Patients." *Journal of Renal Nutrition* 27 (3): 194–200. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2017.01.017>.
- Steiner, R, K Meyer, K Lippuner, J-P Schmid, H Saner, and H Hoppeler. 2004. "Eccentric Endurance Training in Subjects with Coronary Artery Disease : A Novel Exercise Paradigm in Cardiac Rehabilitation ?" *European Journal of Applied Physiology* 91: 572–78. <https://doi.org/10.1007/s00421-003-1000-6>.
- Vale, Ronald D, and Ronald A Milligan. 2000. "The Way Things Move : Looking Under the Hood of Molecular Motor Proteins." *Science* 288 (April).
- Vogt, Michael, and Hans H Hoppeler. 2014. "Eccentric Exercise : Mechanisms and Effects When Used as Training Regime or Training Adjunct." *Journal of Applied Physiology* 116: 1446–54. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00146.2013>.
- Westhoff, MH, L Stemmerik, and HC Boshuizen. 2000. "Effects of a Low-Intensity Strength-Training Program on Knee-Extensor Strength and Functional Ability of Frail Older People." *Journal of Aging and Physical Activity* 8: 325–42.
- Williams, Nerys. 2017. "The Borg Rating of Perceived Exertion (RPE) Scale." *Occupational Medicine* 67: 404–5. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqx063>.
- Wulf, Gabriele, Charles Shea, and Rebecca Lewthwaite. 2010. "Motor Skill Learning and Performance : A Review of Influential Factors." *Mental Education* 44: 75–84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2923.2009.03421.x>.

Synthèse

Les ergom etres existants jusqu'‐alors étant destin es ′ une pratique semi-allong ee^{109,172,236,263,350}, la mise en place de cette étude a nécessité la création d'‐un ergomètre excentrique adapt e ′ la pratique au lit du patient. Pour ce faire, une cassette montée sur un moteur de vélo électrique permettait la mise en mouvement des pédales grâce ′ une chaîne de vélo classique. Un pédalier de type SRM a été utilis e pour mesurer de façon directe les puissances appliquées sur les pédales. Le moteur était aliment e par l'‐intermédiaire d'‐une batterie initialement conçue pour un vélo électrique. Un potentiomètre reli e ′ une interface de commande permettait la mise en route du système et le réglage de la vitesse de

rotation des pédales. Pour permettre le déplacement et l'adaptation de l'ergomètre excentrique au lit, un lève-patient électrique soutenait l'ensemble des éléments. Afin d'assurer une longueur optimale des muscles de la cuisse lors du pédalage excentrique, il était possible de faire varier la distance entre le lit et l'ergomètre.

Les 11 volontaires sains inclus dans cette étude n'ont pas eu de difficulté à maintenir une position allongée sans bouger les bras ou le tronc. Par ailleurs, aucun d'entre eux n'a eu de difficulté avec le rétropédalage. Le suivi de la fréquence cardiaque au cours des sessions d'exercice excentrique a permis d'observer une modeste augmentation de la fréquence cardiaque, ne dépassant pas les 100 bpm (battements par minute). Ces résultats sont concordants avec la littérature existante^{61,236,320}. Les puissances développées pour freiner les mouvements angulaires des pédales sont nettement plus hautes que celles rencontrées pour les mettre en mouvement lors d'exercices concentriques, et comparables à celles associées à l'excentrique pratiqué en position semi-allongée^{224,229}.

Ces données de puissance sont d'ailleurs rarement mesurées par un système d'acquisition directe comme le pédalier SRM, le travail négatif étant souvent estimé par une méthode indirecte^{223,410}. A notre connaissance, seules deux études ont utilisé des systèmes similaires pour mesurer les puissances en condition excentrique^{234,236}. Comparées à nos résultats, les puissances développées dans ces deux études étaient plus faibles pendant les sessions de familiarisation, la vitesse imposée étant plus basse. Conformément à de précédentes observations⁷³, après 5 sessions d'exercice excentrique, les volontaires étaient capables de développer des puissances plus élevées pour la même perception de difficulté de l'effort (RPE). Ainsi, la familiarisation avec l'excentrique permet de développer des puissances de plus en plus importantes sans pour autant percevoir l'effort comme fatigant.

L'augmentation progressive de la charge de travail n'a pas permis d'éviter les douleurs musculaires rétroactives chez certains des volontaires. Six d'entre eux ont ressenti des courbatures d'intensité légère à modérée dans les 48 heures suivant une session d'exercice. Ces douleurs étaient ressenties lors d'activités du quotidien comme la descente d'escaliers, suggérant la présence de micro-dommages musculaires liés à la contrainte excentrique. Il est établi qu'un sujet peut être plus ou moins sensible aux DOMS, et parmi les volontaires inclus dans l'étude, ceux pratiquant de la course sur terrain dénivelé et du cyclisme régulièrement n'ont ressenti que très peu de douleur. L'âge ou le genre n'ont pas été identifiés comme des facteurs déterminants de la sensibilité aux DOMS, mais l'exposition régulière à des contraintes excentriques peut être à l'origine d'un phénomène de protection induite (RBE), expliquant que seuls les volontaires les plus naïfs aient été sujets à ces douleurs.

L'importance de la vitesse d'étirement du muscle en excentrique a précédemment été mise en évidence dans la génération de dommages musculaires¹⁷². Alors que les basses vitesses favorisent la

coordination du travail musculaire, les vitesses élevées induisent un travail désorganisé et sollicitent d'autant plus la composante élastique du muscle et les articulations¹¹¹. Dans d'autres études, même si la vitesse était maîtrisée sous les 60 rpm (rotations par minute), les populations fragiles ont ressenti des douleurs comparables à celles relevées lors de notre étude^{28,234}.

La charge de travail en excentrique possède un rôle majeur dans la génération de dommages musculaires et de DOMS. Même si les douleurs relevées au cours de notre étude étaient de faible intensité, l'acclimatation à l'exercice excentrique se doit d'être mieux maîtrisée, surtout pour une application à des patients hémodialysés. Le protocole d'exercice mis en place tenait compte des recommandations établies dans la littérature, mais les procédures sont généralement peu décrites³⁵⁴. Un modèle de périodisation, proposé par Harris-Love et al., mériterait d'être plus précisément étudié pour introduire de façon sécuritaire l'exercice excentrique¹⁵². En contrôlant la vitesse angulaire et en maintenant une valeur de travail cible, les auteurs proposent d'introduire graduellement l'exercice excentrique pour favoriser le phénomène de protection induite et éviter les dommages. D'autres études sont cependant nécessaires pour établir l'efficacité de ce modèle chez des populations âgées ou présentant des pathologies chroniques¹⁵². De même, la compréhension des mécanismes favorisant le phénomène de protection induite mériterait d'être plus approfondie¹⁸⁰.

S'il a longtemps été suggéré que les gains associés à l'exercice excentrique étaient spécifiques de ce mode d'action³⁵³, la transférabilité de ces gains observée dans notre étude est d'importance clinique. Dans les tâches quotidiennes, la force excentrique permet de freiner le poids de corps et participe au maintien de l'équilibre. L'efficacité de l'entraînement de type excentrique pour diminuer le risque de chute en augmentant spécifiquement la force excentrique a d'ailleurs déjà été démontrée comme égale²²⁸ voire supérieure à celle associée à un entraînement concentrique²²⁴. Des améliorations de la force maximale isométrique ont déjà été observées chez l'athlète³⁵³, mais à notre connaissance, nos résultats sont les premiers à montrer une augmentation de ce paramètre chez des sujets non-athlètes. Des valeurs comparables ont cependant été mises en évidence avec une pratique semi-allongée, mais pas sur des durées aussi courtes^{224-227,230}. L'augmentation de la puissance concentrique observée dans cette étude permet d'étendre les résultats obtenus par Leong et al. après 8 semaines d'entraînement chez des sujets plus jeunes²³⁴. La puissance musculaire est aussi mieux corrélée à la performance physique que la force^{23,340}.

Les résultats révélés par l'électromyographie confirment la présence d'une altération de l'efficacité neuromusculaire. Pour développer la même force isométrique, l'activité nerveuse est augmentée de 5% en fin de programme. De précédentes observations ont fait état d'une altération transitoire, attribuée à des changements de l'excitabilité des membranes ou à des vitesses de conduction du signal

nerveux plus faibles^{73,292}. Comme souligné précédemment, le rôle inhibiteur des organes tendineux de Golgi pourrait aussi expliquer cette diminution de l'efficacité neuromusculaire pour protéger le tissu. L'amélioration notable de la force maximale isométrique suggère que les adaptations au sein du muscle dépassent la légère altération de la fonction contractile. Par ailleurs, il se peut aussi que l'apprentissage du rétro-pédalage contre une force externe ait permis une meilleure synchronisation des muscles agonistes et antagonistes²¹³, améliorant la force produite lors de la contraction^{46,458}.

Cette étude souligne plusieurs éléments pour l'application de l'exercice excentrique au lit du patient :

- La pratique du pédalage excentrique en position allongée est faisable et la perception de la difficulté de l'effort correspond aux observations faites en position semi-allongée.
- La difficulté de l'effort perçue reste faible, et grâce au rendement musculaire propre à l'exercice excentrique, permet de générer de hauts niveaux de puissance.
- La charge de travail doit être rigoureusement contrôlée lors de l'implémentation de l'exercice excentrique pour stimuler le phénomène de protection induite et éviter les micro-dommages.
- La vitesse de pédalage est d'importance capitale pour faciliter la coordination motrice et éviter la sursollicitation de la composante élastique et des articulations.
- Les adaptations à l'exercice excentrique interviennent de façon précoce et sont transférables à d'autres mode d'action comme l'isométrique et le concentrique.

La meilleure stratégie de reconditionnement consiste à intervenir de façon préventive, en amont de l'apparition de contre-indications majeures à la pratique d'exercice combiné en dialyse. Cependant, la faisabilité de l'exercice excentrique en position alitée pourrait permettre l'accès à la réhabilitation des patients présentant une intolérance à l'effort. En restaurant peu à peu les capacités de production de force excentrique, isométrique et concentrique sans imposer de contraintes métaboliques et cardiovasculaires importantes, la réhabilitation par l'exercice excentrique pourrait ralentir voire empêcher le déclin fonctionnel accéléré du patient hémodialysé présentant des limitations cardiovasculaires ou respiratoires à l'exercice.

RESUME DU CHAPITRE III

- La **réhabilitation combinée** est la modalité d'exercice la plus **efficace** pour restaurer la fonction musculaire et est associée à une bonne **acceptabilité** et une bonne **adhésion** de la part des patients hémodialysés.
- La pratique perodialytique d'exercices d'**endurance** et de **résistance** sur une durée de 16 semaines n'engendre pas de **phénomène d'interférence** et permet d'**améliorer** la fonction musculaire quel que soit l'ordre des exercices.
- L'augmentation de l'**équilibre**, de la **vitesse de marche**, de la **force** des membres inférieurs et supérieurs ainsi que de la **résistance à la fatigue** contribuent à l'amélioration de la **fonction physique** globale chez le patient hémodialysé.
- L'entraînement du bras ne portant pas de fistule permet d'améliorer la **force** du bras non exercé grâce à un **effet controlatéral** de grande amplitude, particulièrement si la fistule se situe du **côté non-dominant**.
- La réhabilitation combinée n'est cependant **pas accessible** aux patients les plus **déconditionnés** ou présentant une **intolérance à l'effort** à cause des contraintes métaboliques et cardiovasculaires associées à l'exercice **concentrique**.
- La pratique du **pédalage excentrique en position alitée** est faisable et ne sollicite que très peu le système cardiovasculaire tout en permettant de développer des puissances importantes.
- L'entraînement en excentrique est à l'origine d'**adaptations précoces transférables** à d'autres modes de contraction, permettant d'améliorer la force maximale **isométrique** et la puissance maximale **concentrique**.
- L'exercice excentrique, de par son **efficacité énergétique**, pourrait ainsi être une alternative de choix pour des patients **intolérants à l'effort**.

CHAPITRE IV : MECANISMES DE REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE MUSCULAIRE

L'homéostasie du muscle strié squelettique est assurée par de nombreux mécanismes cellulaires et moléculaires. La compréhension de ces mécanismes est nécessaire à l'établissement de stratégies thérapeutiques efficaces contre le déconditionnement. Le tissu musculaire constitue le plus grand réservoir protéique du corps humain, et l'homéostasie musculaire résulte d'un équilibre du métabolisme protéique entre des processus anaboliques et cataboliques (Figure 40). Cette balance protéique définit de quelle manière le muscle peut répondre à un stimulus donné : soit par augmentation de son anabolisme, stimulant la synthèse protéique et inhibant les voies de dégradation, soit par augmentation de son catabolisme, se traduisant par une dégradation protéique accrue combinée à une réduction des procédés de synthèse¹³⁵. L'équilibre de la balance protéique musculaire détermine le contenu protéique et le diamètre des fibres³⁸⁴. La voie PI3K/Akt/MTORC1 représente le principal signal d'activation de la synthèse protéique, alors que le système ubiquitine-protéasome apparaît comme responsable de la majorité de la protéolyse dans le muscle strié squelettique à l'état basal³⁷. Ces voies de signalisation cellulaires majeures seront décrites dans ce chapitre, avec une attention particulière portée sur les mécanismes étudiés sur modèle animal et transposables à l'Homme.

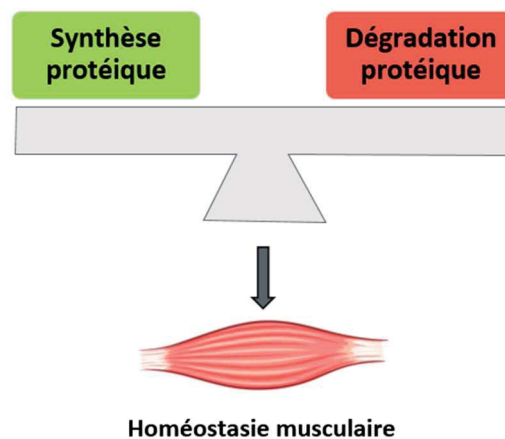


Figure 40 : Balance protéique musculaire

1. Croissance musculaire et hypertrophie

L'anabolisme musculaire se traduit par une augmentation de la synthèse protéique qui permet la croissance ou l'hypertrophie du muscle strié squelettique. La synthèse protéique nécessite plusieurs étapes, avec en premier lieu la transcription dans le noyau de l'ADN en ARN messager (ARNm), suivie de la traduction par les ribosomes dans le cytoplasme de l'ARNm en protéines (Figure 41). Les ribosomes sont constitués d'ARN ribosomiques (ARNr) et de protéines et sont assemblés en deux sous-unités qui jouent des rôles distincts. La petite sous-unité assure la lecture de l'ARN messager tandis que la grande sous-unité catalyse la synthèse des liaisons peptidiques entre les acides aminés successifs de la protéine.

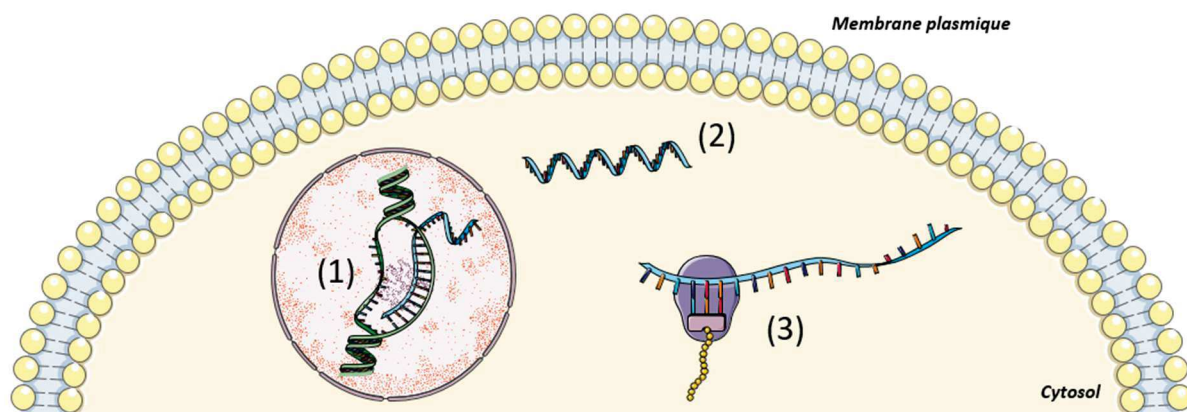


Figure 41 : Déroulement de la synthèse protéique dans la cellule musculaire. La synthèse protéique requiert d'abord (1) la transcription de l'ADN contenu dans le noyau en ARNm, qui, une fois dans le cytoplasme (2) pourra être traduit en protéines par les ribosomes (3)

L'activation de la synthèse protéique fait suite à des stimuli anabolisants comme l'insuline ou les facteurs de croissance qui, en se liant à leurs récepteurs membranaires, déclenchent à l'intérieur de la cellule musculaire une cascade de réactions biochimiques menant à la traduction protéique. Au centre de cette signalétique cellulaire, la protéine mTOR (Mechanistic Target Of Rapamycin) joue un rôle majeur.

1.1. Activation de la synthèse protéique

mTOR est une protéine de 289 kDa présentant une activité de serine/thréonine kinase qui forme deux complexes : MTORC1 (Mechanistic Target Of Rapamycin Complex 1) et MTORC2 (Mechanistic Target Of Rapamycin Complex 2)²⁴⁵. Le complexe MTORC1 comprend mTOR, RAPTOR (Regulatory Associated Protein of mTOR), mLST8 (mTOR-associated protein LST8 homolog), DEPTOR (DEP domain containing

mTOR-interacting protein), et PRAS40 (Proline Rich Akt Substrate of 40 kDa). Le complexe MTORC2 contient mTOR, RICTOR (Rapamycin-Insensitive Companion of mTOR), mLST8, DEPTOR et mSIN1 (mammalian Stress-activated protein kinase INteracting protein 1)⁴⁰².

Le complexe MTORC2 se différencie de MTORC1 par sa sensibilité à la rapamycine qui n'induit son inhibition qu'après un traitement chronique prolongé²⁴⁵. MTORC2 est un régulateur central de l'apport en glucose en réponse à l'insuline et à l'exercice⁴¹⁹. De nombreuses études corroborent le rôle central de MTORC1 dans la régulation de la croissance et de la masse musculaire⁴⁰². Si d'autres voies participent à la régulation de la masse musculaire, il est désormais établi que le développement du muscle pendant la croissance est principalement dépendant de MTORC1^{24,402}. A l'âge adulte, d'autres voies participent au maintien de la masse musculaire, MTORC1 jouant un rôle important dans la réponse hypertrophique suite à un stimulus comme l'exercice⁴⁶⁰.

a. Voie PI3K/Akt/MTORC1

L'activation de la voie PI3K/Akt/MTORC1 débute par la liaison de l'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1) ou de l'insuline non seulement à leurs récepteurs respectifs mais également à des hybrides du récepteur IGF-1R (IGF-1 Receptor) - IR (Insulin Receptor) induisant son activation (Figure 42)⁴⁰². La phosphorylation du récepteur IGF-1R permet le recrutement de IRS1 (Insulin Receptor Substrate 1) et consécutivement l'activation de PI3K (Phosphatidylinositol 3-Kinase). PI3K permet alors la génération du PIP3 (Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate) en catalysant le transfert d'un groupement phosphate sur la protéine membranaire PIP2 (Phosphatidylinositol 4,5-biphosphate)⁴⁰².

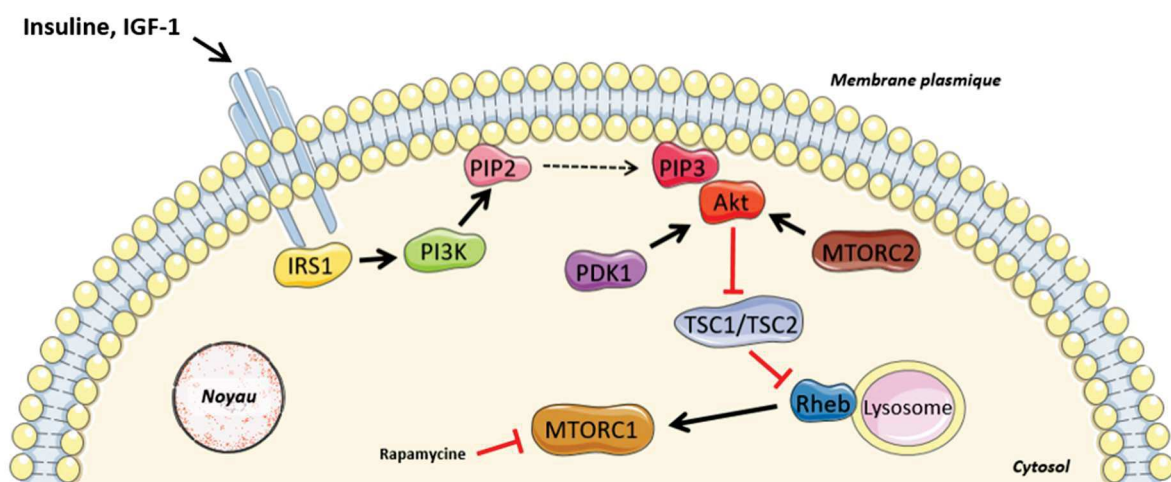


Figure 42 : Activation de l'axe PI3K/Akt/MTORC1 et de la synthèse protéique

La kinase PDK-1 (Phosphoinositide-Dependent protein Kinase-1) est alors recrutée et induit l'activation d'Akt (ou Protéine Kinase B, PKB). Il est à noter que MTORC2 permet l'activation complète d'Akt⁴⁰². La signalisation MTORC2 est également régulée par MTORC1 assurant une boucle de rétrocontrôle négatif¹⁷⁴. La phosphorylation d'Akt permet alors l'inhibition de TSC1/TSC2 (Tuberous Sclerosis Complex 1/2) et la levée d'inhibition de MTORC1 par le biais de la protéine GTPase Rheb (Ras homolog enriched in brain).

L'activation d'Akt permet aussi la phosphorylation menant à l'inhibition de GSK3 β (Glycogen Synthase Kinase 3)³⁵⁵. GSK3 β est une sérine/thréonine kinase dont l'activité constitutive inhibe l'initiation de la synthèse protéique *via* eIF2B (eukaryotic Initiation Factor 2B). En réponse à IGF-1 ou à l'insuline³⁵⁵, l'inactivation de GSK3 β par Akt permet à eIF2B de catalyser l'échange du GDP lié à eIF2 en GTP et d'initier la synthèse protéique³⁵⁵. Parallèlement au rôle de GSK3 β dans la synthèse protéique dépendante de l'axe IGF-1/Akt, GSK3 β participe à divers processus biologiques incluant la synthèse du glycogène et l'activation de la β -caténine³⁵⁵.

L'axe PI3K/Akt joue ainsi un rôle central dans l'inactivation de TSC1/2 et de GSK3 β permettant de stimuler la synthèse protéique. L'activation de MTORC1 et l'initiation de la synthèse protéique concomitante peuvent aussi être déclenchées par des signaux indépendants d'Akt.

b. Voie des MAP kinases

En réponse à un stimulus mécanique, l'activation de MTORC1 peut être induite par la voie de la protéine kinase MAPK (Mitogen-activated protein Kinase)/ERK (Extracellular signal Regulated Kinase) menant à l'inhibition du complexe TSC2 sans implication de l'axe PI3K/Akt⁴⁰² (Figure 43). Par ailleurs, la voie ERK1/2 régule aussi la croissance musculaire en contrôlant l'expression de facteurs de croissance nucléaires comme Elk-1 (ETS-like protein-1), c-Myc, c-Jun et c-Fos⁴⁰².

L'exercice en résistance active la voie MAPK et plus particulièrement ERK1/2 indépendamment de MTORC1. Il est à noter que l'exercice excentrique permet aussi l'activation de la voie de signalisation cellulaire associée à MAPK. A la différence des exercices concentriques, induisant une augmentation de l'expression de la protéine ERK mais ayant peu d'effet sur la kinase p38 MAPK, l'exercice excentrique semble promouvoir l'activation simultanée des deux protéines¹³⁰. La kinase p38 est impliquée dans de nombreuses réponses biologiques induites par un stress cellulaire et participe avec ERK à l'activation de nombreuses kinases MKs (MAPK-activated protein kinases) et de plusieurs facteurs de transcription comme Elk-1³⁵⁷. Enfin, la voie des MAP kinases active plusieurs protéines ribosomales comme p90, régulant ainsi la phosphorylation de rpS6 (protéine ribosomale S6) et l'initiation de la synthèse protéique indépendamment de MTOR³⁵⁸.

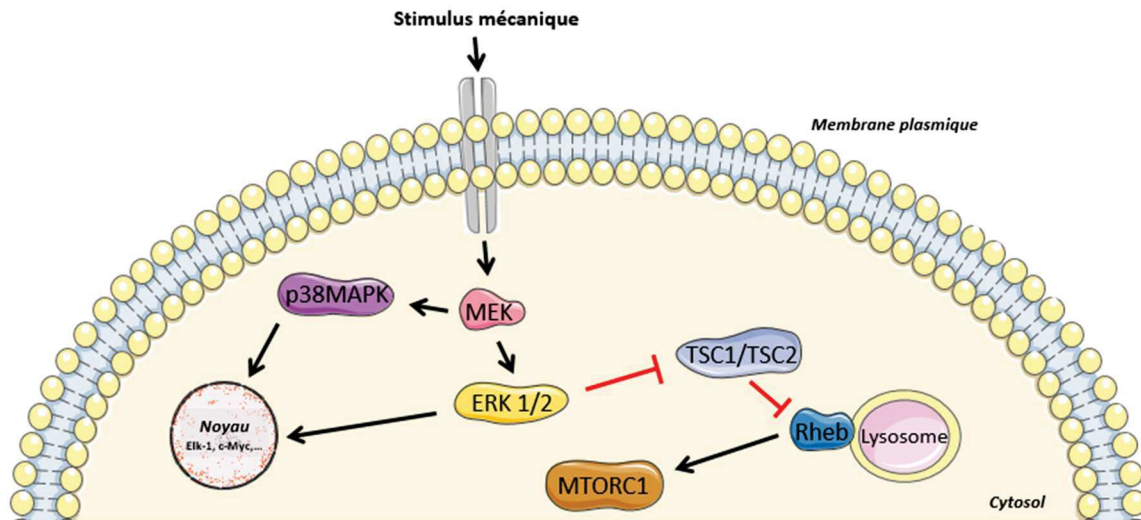


Figure 43 : Activation de MTORC1 par la voie des MAPK indépendante de l'axe PI3K/Akt

c. Autres voies de régulation

D'autres signaux cellulaires permettent d'initier la synthèse protéique, comme l'acide phosphatidique (PA) dont l'accumulation permet l'activation indirecte de MTORC1⁴⁰². La voie du diacylglycérol (DAG) et des DAG kinases semble impliquée dans la biosynthèse du PA en réponse à un stimulus mécanique mais les données relatives à cette signalisation cellulaire restent limitées⁴⁰². La voie des $\beta 2$ agonistes permet aussi l'augmentation de la synthèse protéique médiée par la voie des adénylate cyclases. La stimulation de cette voie conduit à l'activation de la protéine PKA capable d'induire la traduction protéique³⁴¹. En outre, l'administration de $\beta 2$ agonistes conduit à une hypertrophie du muscle strié squelettique qui est associée à une élévation des niveaux de phosphorylation des sous-effecteurs de MTORC1 tels que 4EBP1 (4EBinding Protein-1) et S6K1 (70 kDa ribosomal S6 Kinase 1), suggérant que la croissance musculaire induite par les $\beta 2$ agonistes est aussi liée à MTORC1²⁰⁷.

1.2. Initiation de la synthèse protéique

L'étape de traduction constitue la synthèse protéique à proprement parler, où le code génétique permet l'assemblage d'acides aminés en protéines fonctionnelles. Après son activation, MTORC1 va induire la phosphorylation des deux effecteurs clés 4EBP1 et S6K1 et ainsi promouvoir l'initiation de la synthèse protéique⁴⁰² (Figure 44). La phosphorylation par MTORC1 de 4EBP1 entraîne sa dissociation de eIF4E (eukaryotic Initiation Factor 4 subunit E) qui s'associe alors à eIF4G (eukaryotic Initiation

Factor 4 subunit G) pour promouvoir l'initiation de la traduction protéique⁴⁰². D'un autre côté, la phosphorylation de S6K1 par MTORC1 est complétée par une deuxième phosphorylation assurée par PDK1 qui permet son activation complète⁴⁰².

Pour la majorité des ARNm cellulaires, la traduction commence par l'attachement de la petite sous-unité ribosomale (40S) sur la coiffe méthylée au niveau de la position 5' de l'ARNm¹⁴⁰. L'initiation de la traduction commence par le recrutement de l'ARN de transfert (ARNt) initiateur-méthionine (Met-ARNti) et d'une molécule de GTP (guanosine triphosphate) par le facteur d'initiation eIF2. Leur association forme ainsi un complexe ternaire eIF2-GTP-Met-ARNti¹⁴⁰. Ce complexe va alors interagir avec les facteurs d'initiation de la traduction eIF5 et eIF3, préalablement fixés à la sous-unité 40S, pour former le complexe 43S¹⁴⁰. Le complexe 43S se fixe alors à l'ARNm pour constituer le complexe de pré-initiation PIC 48S. Lors de cette étape, eIF4F (eukaryotic Initiation Factor 4 subunit F) joue le rôle d'adaptateur entre la coiffe et la petite sous-unité 40S¹⁴⁰.

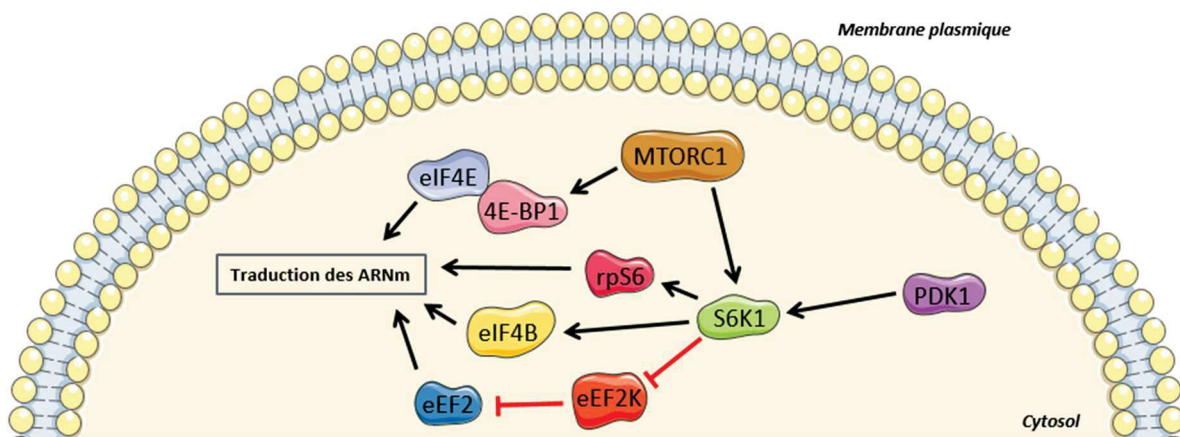


Figure 44 : Activation des substrats de MTORC1 et rôle central de S6K1 dans la traduction protéique

S6K1 joue un rôle majeur dans l'initiation de la traduction protéique dépendante de la voie MTORC1 en ciblant à la fois la protéine ribosomale S6 (rpS6), le facteur d'initiation eIF4B (eukaryotic Initiation Factor 4 subunit B) et eEF2k (eukaryotic Elongation Factor 2 Kinase)⁴⁰². rpS6 est une des protéines de la sous-unité ribosomale 40S, favorisant la traduction de protéines ribosomales et de facteurs d'initiation de la traduction comme les eIFs (eukaryotic Initiation Factors)⁴⁰². eIF4B participe à l'assemblage du complexe de pré-initiation (PIC) 48S, et eEF2k inhibe eEF2 (eukaryotic Elongation Factor 2) pour promouvoir la traduction des ARNm dans les ribosomes⁴⁰².

Le complexe de pré-initiation 48S parcourt ensuite l'ARNm de 5' en 3', jusqu'à la séquence d'initiation AUG appelée « codon start » qui est reconnue par un mécanisme de balayage¹⁴⁰. La reconnaissance de cette séquence permet le recrutement de la grande sous-unité ribosomique 60S créant le ribosome 80S assurant l'élongation de la traduction et la synthèse des peptides¹⁴⁰. Le ribosome va alors lire l'information portée par l'ARNm sous forme de triplets de nucléotides, les codons, qu'il traduit en acides aminés assemblés pour former la protéine, selon l'ordre donné par les codons portés par l'ARNm. Outre les ribosomes qui assurent le décodage de l'ARNm et l'assemblage des peptides, la traduction nécessite des acides aminés apportés par des ARNt, des facteurs de traduction qui assistent les différentes étapes du processus et de l'énergie sous forme de GTP. Les phases d'élongation et de terminaison font suite à la phase d'initiation de la traduction protéique dont il est question dans ce travail de thèse.

1.3. Biogenèse des ribosomes

La croissance musculaire et l'hypertrophie du muscle chez l'adulte sont dépendantes de l'activité de la synthèse protéique. Se déroulant dans les ribosomes, ces organites cellulaires possèdent un rôle capital dans l'activité traductionnelle. Les ribosomes sont des complexes ribonucléoprotéiques et leur synthèse débute par la transcription de l'ARN ribosomal assurée par une enzyme, la RNA polymérase I (Pol I) qui permet la formation d'un pré-ARN 47S qui sera par la suite clivé en plusieurs transcrits⁴⁰². Pol I régule ainsi dès les premières étapes la biogenèse des ribosomes, avec TIF-1A, TIF-1B (Transcription Initiation Factor 1A et 1B) et UBF (Upstream Binding Factor) formant un complexe de pré-initiation (Figure 45)⁴⁰².

MTORC1 possède des fonctions régulatrices importantes dans le cytosol, mais sa translocation nucléaire lui permet d'assurer, comme S6K1, des fonctions dans le noyau de la cellule. MTORC1 est un régulateur majeur de la biogenèse des ribosomes qui intervient à différentes étapes, en commençant par l'activation de TIF-1A permettant la synthèse de l'ARN pré-ribosomal médiée par Pol I⁴⁰². Ensuite, la RNA polymérase III (Pol III), répresseur de la synthèse des ARN de transfert, est indirectement inhibée par MTORC1 par l'intermédiaire de la phosphorylation de MAF1⁴⁰². Cette levée d'inhibition par MTORC1 permet ainsi la synthèse des ARNt⁴⁰².

MTORC1 régule aussi l'expression de l'oncoprotéine c-Myc, impliquée dans la transcription de nombreux gènes requis pour initier la traduction des ARNm^{145,329}. c-Myc régule par ailleurs la transcription d'UBF, de TIF-1A, de TIF-1B, et de plusieurs RNA polymérases dont Pol I⁴⁰². Enfin, mTOR interagit avec LARP1 (LA-Related Protein 1) impliquée dans la traduction des TOP ARNm (Terminal Oligopyrimidine) régulant ainsi la production de protéines ribosomales et de facteurs d'initiation et

d'élongation⁴⁰². Une autre voie de signalisation cellulaire, la voie canonique Wnt/ β -caténine/c-Myc, implique l'accumulation de la β -caténine non phosphorylée menant à sa translocation nucléaire⁵⁹. Dans le noyau, la β -caténine régule l'expression de l'oncoprotéine c-Myc et exerce alors un contrôle sur la biogenèse des ribosomes⁵⁹. Au vu des nombreux composants intervenant de façon commune dans ces deux voies, il semble d'ailleurs exister une interaction entre la voie PI3K/Akt/MTORC1 et la voie Wnt/ β -caténine/c-Myc dans le contrôle de la masse musculaire et la genèse des ribosomes⁵⁹.

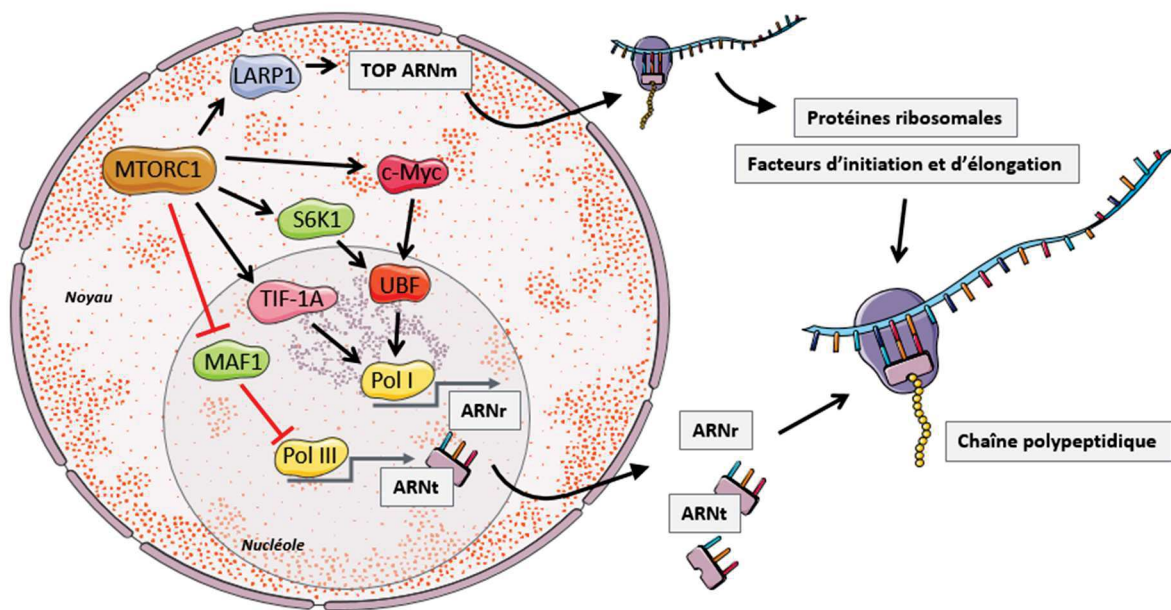


Figure 45 : MTORC1 stimule la biogenèse des ribosomes

Le complexe MTORC1 exerce un rôle critique dans l'anabolisme musculaire, en régulant à la fois la biogenèse des ribosomes et l'initiation de la synthèse protéique. Une partie des mécanismes régulant la croissance musculaire et l'hypertrophie ont été décrits dans ce chapitre. Leur connaissance approfondie est nécessaire à la compréhension des problématiques de santé autour du tissu musculaire squelettique mais aussi pour établir des approches thérapeutiques efficaces tant chez les populations malades chroniques que chez les personnes âgées.

1.4. Approches thérapeutiques d'activation de la synthèse protéique

Plusieurs facteurs ont un effet anabolisant sur le tissu musculaire, comme les hormones, l'activité physique et les nutriments. L'anabolisme protéique au sein du muscle dépend aussi de l'état énergétique de la cellule, de l'âge, de la disponibilité en acides aminés, du stress oxydant,...

L'insuline est une hormone hypoglycémisante au niveau systémique qui possède une action anabolisante au niveau du muscle strié squelettique. L'élévation des niveaux circulants après une collation est associée à une activation de la synthèse protéique chez des sujets jeunes. Cette réponse tend à s'émousser avec l'âge, mais à dose supraphysiologique, la supplémentation en insuline parvient à activer la synthèse protéique chez des sujets âgés¹³². Il est ainsi établi que la sensibilité à l'insuline diminue avec l'avancée en âge et participe au phénomène de résistance anabolique du muscle strié squelettique qui s'installe progressivement chez le sujet vieillissant⁹⁰. D'autres hormones comme la ghréline, la testostérone et les agonistes β_2 adrénergiques possèdent aussi des propriétés anabolisantes en stimulant la voie de synthèse associée à MTORC1⁷⁷. Plusieurs essais cliniques sur ces molécules sont en cours mais pourraient générer des effets indésirables sur le développement tumoral ou encore entraîner une résistance à l'insuline et du diabète⁷⁷.

Certains composés naturels comme l'acide ursolique et la tomatidine stimulent l'hypertrophie chez l'animal en augmentant à la fois l'activation des récepteurs à l'insuline ainsi que l'activité de MTORC1 et d'Akt¹⁰⁴. L'augmentation de la synthèse protéique est ici associée à une diminution de l'activité des voies de dégradation protéique¹⁰⁴. La prise de masse musculaire s'accompagne d'une augmentation de la force spécifique, indiquant que ces deux principes actifs agissent davantage sur la fonction que sur la masse musculaire¹⁰⁴. D'autres stratégies impliquant les récepteurs des androgènes comme l'uroolithine B ou l'Enobosarm semblent stimuler l'activation de MTORC1 indépendamment d'Akt tout en diminuant la dégradation protéique^{90,215,351}. Ces agents non stéroïdiens agissant de la même façon que la testostérone sont en cours d'évaluation chez l'animal et un essai clinique sur l'Enobosarm indique que la supplémentation par voie orale semble améliorer à la fois la masse et la fonction musculaire chez la personne âgée²¹⁵.

Parmi les éléments capables d'augmenter l'anabolisme musculaire, l'exercice physique constitue le plus puissant modulateur de la synthèse protéique, conférant au muscle strié squelettique la capacité de répondre à l'activité physique en modifiant l'expression de gènes ou de protéines pour ajuster son matériel contractile¹²⁹. Une seule session d'exercice en résistance permet ainsi l'augmentation du flux de synthèse protéique, particulièrement chez des sujets jeunes⁹⁸. Dans cette population, l'entraînement en résistance à charge faible mais à volume élevé est plus efficace pour stimuler la synthèse protéique qu'un entraînement impliquant une charge élevée pour un volume faible⁴⁰². Chez la personne âgée, un entraînement d'une intensité faible à moyenne apparaît suffisant pour induire des améliorations de la fonction musculaire et de la VO_{2max} , alors qu'une intensité élevée n'améliore pas les gains de force et pourrait même induire des altérations mitochondriales⁴⁰². Un volume d'entraînement modéré permet de meilleurs gains de force et de masse musculaire associés à une induction plus importante de la biogenèse ribosomique⁴⁰². La réponse anabolique tend à diminuer avec

l'âge où l'activation de MTORC1 en réponse à l'exercice en résistance diminue drastiquement⁹⁸. Ce phénomène est attribué à la baisse de la sensibilité de l'organisme âgé à la disponibilité en acides aminés, semblant indiquer l'existence d'un seuil quantitatif d'acides aminés nécessaire pour parvenir à la même réponse de protéosynthèse lors de l'avancée en âge⁹⁸.

De nombreux processus métaboliques au sein de la cellule musculaire sont sensibles à l'apport nutritionnel, et le niveau d'acides aminés circulants peut moduler l'activité de synthèse protéique. Les mécanismes sous-jacents de cette réponse anabolique à la disponibilité en nutriments requièrent l'activation de MTORC1 et de ses substrats mais ne sont pas encore complètement élucidés⁴⁰². La supplémentation en lysine est ainsi associée à une activation de la synthèse protéique dépendante de MTORC1⁴⁰². Parmi les acides aminés, les acides aminés ramifiés (Branched Chain Amino Acids, BCAA) comme la leucine, l'isoleucine ou la valine provoquent aussi l'activation de la voie PI3K/Akt/MTORC1^{128,402} par l'intermédiaire des protéines Rag¹⁰⁶ (Figure 46). L'ingestion d'œufs après l'exercice en résistance induit une activation de la synthèse protéique impliquant la protéine mTOR, mais les approches nutritionnelles testées chez l'Homme ne semblent pas maximiser les gains de masse musculaire sur le long terme ni bénéficier à la réparation des dommages musculaires et peuvent même être à l'origine de perturbations métaboliques néfastes^{94,128,402}.

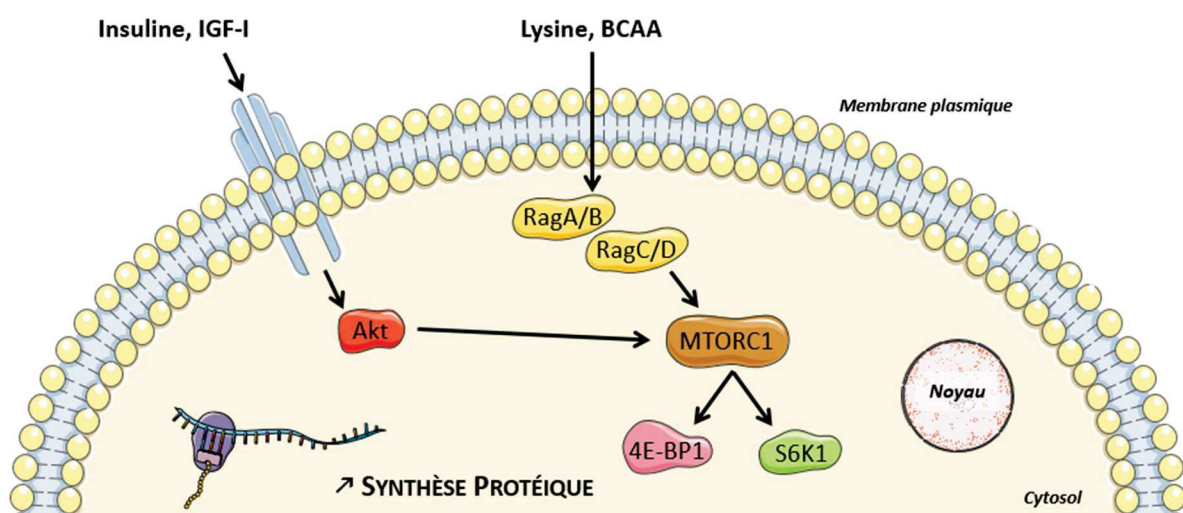


Figure 46 : Activation de la synthèse protéique par une approche nutritionnelle

La compréhension de ces mécanismes pourrait permettre le développement d'approches thérapeutiques de la sarcopénie basées sur l'activation de la synthèse protéique. Dans le cadre sportif, l'usage de ce type d'agents pourrait aussi servir la performance sportive et être finalement détourné

vers du dopage. Dans un contexte thérapeutique, l'activation de la synthèse protéique pourrait aussi générer des effets secondaires sur la croissance tumorale. La balance protéique musculaire dépendant aussi de la dégradation protéique, les mécanismes cellulaires et moléculaires qui mènent à l'atrophie musculaire doivent être caractérisés. La meilleure compréhension des mécanismes de synthèse et de dégradation et de leurs régulations mutuelles permettrait le développement d'approches thérapeutiques de la sarcopénie harmonieuses, préventives et dépourvues d'effets secondaires.

2. Atrophie musculaire

Si les hormones, l'activité physique et la nutrition peuvent stimuler l'anabolisme protéique, d'autres facteurs environnementaux entraînent l'augmentation du catabolisme du tissu musculaire et la répression des voies de synthèse. Parmi ces stimuli, on retrouve l'inactivité, l'inflammation, mais aussi le jeûne et la dénervation¹³⁵. L'augmentation de la dégradation protéique engendre l'atrophie musculaire observée dans le cadre de l'immobilisation, la malnutrition, les maladies chroniques,... L'atrophie se traduit alors par la réduction de la taille et du poids des myofibrilles et par la diminution du contenu protéique musculaire associées à une inhibition des voies de synthèse³⁶⁸. Plusieurs mécanismes interviennent dans le catabolisme musculaire, le système ubiquitine-protéasome et l'autophagie assurant la majeure partie de la protéolyse¹⁴¹.

2.1. Système ubiquitine-protéasome

Le système ubiquitine-protéasome régule le taux de protéines de la cellule et élimine les protéines anormales ou endommagées. Agissant comme un recycleur du muscle strié squelettique, ce système fait appel au marquage des protéines cibles et à leur dégradation en peptides puis en acides aminés qui seront réutilisés par la machinerie cellulaire. On distingue alors deux grandes étapes énergivores qui nécessitent chacune l'hydrolyse de l'ATP : la conjugaison covalente d'au moins une molécule d'ubiquitine (Ub) à la protéine cible et son transport vers le protéasome 26S²⁴⁴.

a. Ubiquitination

L'ubiquitine est une petite protéine de 76 acides aminés présente chez toutes les cellules eucaryotes²⁴⁴. Généralement, elle est exprimée sous forme de précurseurs protéiques, soit en fusionnant avec une autre protéine, le plus souvent ribosomale, soit en un enchaînement de plusieurs molécules d'ubiquitine qui fusionnent les unes aux autres²⁴⁴. Pour être mobilisable, l'ubiquitine doit donc d'abord être clivée grâce à une enzyme de déubiquitination ou DUB (DeUBiquitinating

enzymes)²⁹⁰. La fusion entre molécules d'ubiquitine et protéines ribosomales semble d'ailleurs jouer un rôle dans la biogenèse des ribosomes décrite précédemment¹²².

Pour être conjuguée à ses substrats, l'ubiquitine nécessite une cascade de réactions impliquant 3 enzymes différentes et respectivement dénommées E1, E2 et E3²⁹⁰. L'enzyme d'activation de l'ubiquitine, ou E1, active l'ubiquitine grâce à l'hydrolyse de l'ATP²⁹⁰. La libération d'énergie permet la formation d'une liaison thiol-ester de haute énergie entre la glycine C-terminale de l'ubiquitine et le groupement thiol d'une cystéine située sur l'E1²⁹⁰. L'ubiquitine activée est alors transférée sur l'enzyme de conjugaison de l'ubiquitine, ou E2, au niveau du groupement thiol de sa cystéine active²⁹⁰. Enfin, l'ubiquitine-ligase, ou E3, permet le transfert de l'ubiquitine de l'E2 vers le substrat en formant une liaison amide entre la glycine C-terminale de l'ubiquitine et une lysine du substrat²⁹⁰.

Les protéines peuvent être marquées par l'addition en série de plusieurs molécules d'ubiquitine²⁴⁴. Dans ce cas, on parlera de polyubiquitination, impliquant l'ajout d'ubiquitine sur la première molécule liée à son substrat. L'élongation de la chaîne d'ubiquitine se fait par formations successives de liaisons isopeptidiques entre la glycine C-terminale de la nouvelle molécule et la lysine K48 de l'ubiquitine déjà conjuguée^{244,290}. Dans cette cascade de réactions enzymatiques, l'ubiquitine-ligase E3 est un facteur clé dans l'identification et le marquage des protéines qui seront adressées au protéasome pour y être dégradées. Le marquage par polyubiquitination est un processus dynamique et réversible par l'action des DUB, pouvant non seulement séparer l'ubiquitine de son substrat mais aussi cliver les chaînes de molécules d'ubiquitine²⁹⁰.

Chez l'Homme, il existe plus de 650 ubiquitine-ligases qui sont impliquées dans la régulation des processus cellulaires²⁹⁰. Dans le muscle strié squelettique, deux principales ubiquitine-ligases spécifiques ont été mises en évidence : MuRF1 (Muscle Ring Finger protein 1, anciennement TRIM63) et MAFbx (Muscle Atrophy F box ou Atrogène 1)²⁹⁰. A la différence de MAFbx, MuRF1 ne contient pas de domaine catalytique et sert uniquement d'échafaudage amenant l'enzyme E2 à son substrat¹²⁵. Lorsque le muscle s'atrophie, on note une surexpression de ces deux enzymes^{34,37,135}, et les souris déficientes pour l'un des deux gènes ne présentent pas d'atrophie musculaire lorsqu'elles sont soumises à dénervation¹³⁵. *In vivo*, l'inhibition par shRNA (short hairpin RNA) de MAFbx induit une résistance à la perte musculaire des souris⁷⁸. Les mécanismes sous-jacents associés à MuRF1 et à MAFbx sont en cours d'étude et les cibles d'ubiquitination des deux E3 ligases identifiées jusqu'alors sont peu nombreuses³⁵.

b. Dégradation par le protéasome

Le protéasome se situe au niveau du cytoplasme de la cellule et s'accumule dans des régions particulières. On trouve des agrégats de protéasomes et de leurs substrats autour du centrosome, à proximité du cytosquelette ou encore liés à la surface externe du réticulum endoplasmique. Leur localisation peut aussi varier en fonction du type cellulaire, suggérant que la distribution spatiale des protéasomes pourrait être liée à des besoins protéolytiques spécifiques²⁹⁰.

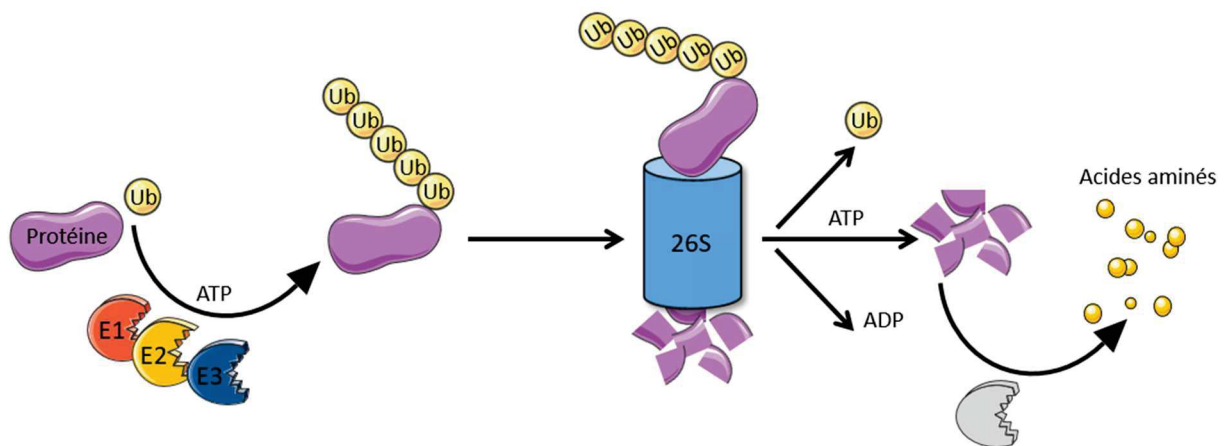


Figure 47 : Dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome

Le protéasome 26S est un important complexe d'environ 2500 kDa formé par un corps catalytique 20S et un ou deux complexes régulateurs 19S²⁹⁰. Le complexe régulateur permet entre autres la reconnaissance des substrats, leur déubiquitination et le recyclage de l'ubiquitine²⁹⁰. C'est en revanche dans le corps catalytique 20S que les substrats sont dégradés en peptides²⁹⁰ (Figure 47). Une fois dans le cytosol, ceux-ci sont alors digérés par des peptidases, générant des acides aminés directement réutilisables pour la synthèse de nouvelles protéines ou la production d'énergie²⁹⁰.

2.2. Autophagie

L'autophagie permet de dégrader et de recycler des protéines endommagées afin de synthétiser les éléments nécessaires à la survie cellulaire grâce aux acides aminés libérés. De nombreux processus cellulaires font appel à l'autophagie, comme la réponse immunitaire et l'apoptose. S'il existe plusieurs types d'autophagie, la macroautophagie est la mieux caractérisée et la seule à dégrader massivement des macromolécules et des organites³³⁷. L'autophagie est une alternative au système ubiquitine-protéasome qui consiste à dégrader du matériel intracellulaire *via* les lysosomes²⁰¹. Dans la cellule

eucaryote, c'est le seul système capable de détruire les agrégats de protéines²⁰¹. A la différence du système ubiquitine-protéasome nécessitant l'ubiquitination des protéines avant de les dégrader, l'autophagie agit de manière non-sélective²⁰¹.

Plusieurs étapes sont nécessaires à la dégradation du matériel cytoplasmique qui doit d'abord être séquestré par la formation d'une vacuole initiale appelée phagophore (Figure 48). Les phagophores entourent une partie délimitée du cytoplasme avec tous les éléments qu'il contient avant de se refermer. Lorsqu'une seconde membrane se forme, les phagophores sont alors appelés autophagosomes. Les autophagosomes nécessitent une maturation en vacuole de dégradation avant de fusionner avec le lysosome. La fusion permet le partage d'enzymes hydrolytiques contenues dans les lysosomes qui digèrent tous les constituants du cytoplasme séquestrés.

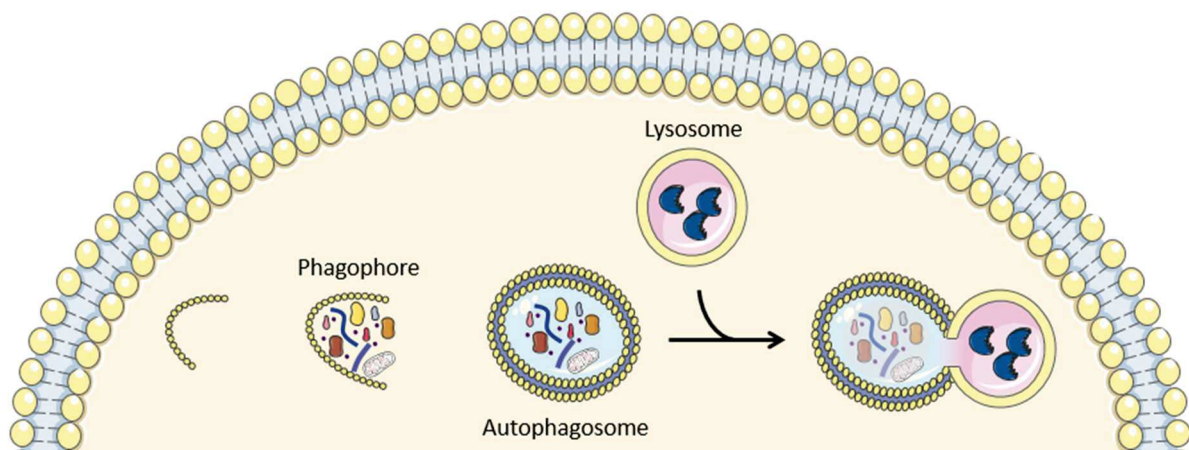


Figure 48 : Dégradation de constituants cellulaires par macroautophagie

En permettant le renouvellement de certains constituants cellulaires, l'autophagie participe au maintien de l'homéostasie musculaire. Le maintien du flux autophagique permet en effet d'assurer un contrôle qualité des protéines à longue durée de vie et des agrégats protéiques contenus dans la cellule. Le renouvellement des organites comme les mitochondries (mitophagie) permet d'éviter la production de ROS et de radicaux libres par des mitochondries endommagées et d'assurer la survie de la cellule²⁸⁰. La voie de l'autophagie est ainsi stimulée par un stress cellulaire et agit comme un système protecteur en condition pro-atrophique.

Le flux autophagique est sous le contrôle de mTOR qui est activée par les acides aminés recyclés lors de la dégradation des protéines. De nombreux gènes gouvernent également l'autophagie, désignés par le même sigle, Atg²⁸⁰. Les protéines codées par les Atg permettent le bon déroulement de

l'autophagie et la régulation adaptée de son activité²⁸⁰. Parmi ces protéines, la kinase Atg1, cible de mTOR, inhibe la formation des autophagosomes²⁸⁰. La protéine Atg6, appelée Beclin1 chez les mammifères, forme un complexe avec la kinase PI3K et recrute différents partenaires anti-apoptotiques tels que Bcl-2 qui inhibe la formation de l'autophagosome²⁸⁰. Enfin, Atg3 et Atg7 catalysent la fixation de la phosphatidyléthanolamine (PE) sur Atg8 (nommée LC3 chez les mammifères) par un mécanisme s'apparentant à l'ubiquitination. Le composé Atg8-PE est associé à la membrane interne de l'autophagosome et constitue un marqueur spécifique de cet organite²⁸⁰.

2.3. Voies cellulaires régulant l'atrophie

L'activation du système ubiquitine-protéasome et de l'autophagie nécessite l'expression de facteurs régulés par des voies signalétiques cellulaires spécifiques qui mènent à l'augmentation du catabolisme musculaire. Ces mécanismes de signalisation impliquent des gènes, appelés atrogènes, capables d'influencer non seulement l'activité des voies de dégradation mais aussi celle de la synthèse des protéines.

a. Voie Akt/FoxO

Plusieurs conditions environnementales ont un effet pro-atrophique, comme l'inactivité, la dénutrition, le stress oxydant, l'inflammation ou encore la décharge mécanique. Ces environnements conduisent à la production de facteurs transcriptionnels régulant l'expression des ubiquitine ligases comme MuRF1 et MAFbx. Parmi eux, on retrouve les facteurs de transcription de la famille Forkhead (FoxO) présents sous trois isoformes : FoxO1, FoxO3 et FoxO4^{44,382}.

Comme nous l'avons vu précédemment, Akt est un élément majeur dans le contrôle de la synthèse protéique dépendante de MTORC1. Lorsque l'axe PI3K/Akt/MTORC1 est activé, Akt bloque les expressions de MAFbx et MuRF1 ainsi que d'autres atrogènes par l'intermédiaire des facteurs de transcription FoxO³⁸² (Figure 49). Akt phosphoryle les facteurs FoxO grâce à la liaison de la protéine chaperonne 14-3-3 et permet leur export du noyau vers le cytoplasme où ils seront séquestrés^{48,155}. A l'inverse, en l'absence d'activation de l'axe Akt/MTORC1, Akt est inactive et les facteurs FoxO localisés dans le noyau sont en mesure d'activer la transcription des atrogènes MAFbx et MuRF1¹⁵⁵. Ainsi, la voie Akt/FoxO participe activement à la régulation de l'atrophie musculaire³⁸².

Le stress oxydant peut aussi favoriser l'expression de MAFbx et MuRF1 *via* la nNOS (neuronal Nitric Oxide Synthase). La signalisation de la nNOS après un stress oxydant semble protéger FoxO3 contre son export du noyau et donc de sa phosphorylation par Akt, permettant la transcription de MAFbx et MuRF1^{362,417}. D'autres études ont par ailleurs montré que de hauts niveaux de ROS liés au stress

oxydant inhibent l'action de l'insuline et de ce fait contribuent au développement d'une résistance anabolique²¹⁵. Les espèces réactives de l'oxygène favorisent l'expression de protéines intervenant dans la dégradation protéique assurée par le système ubiquitine-protéasome et l'autophagie²¹⁵.

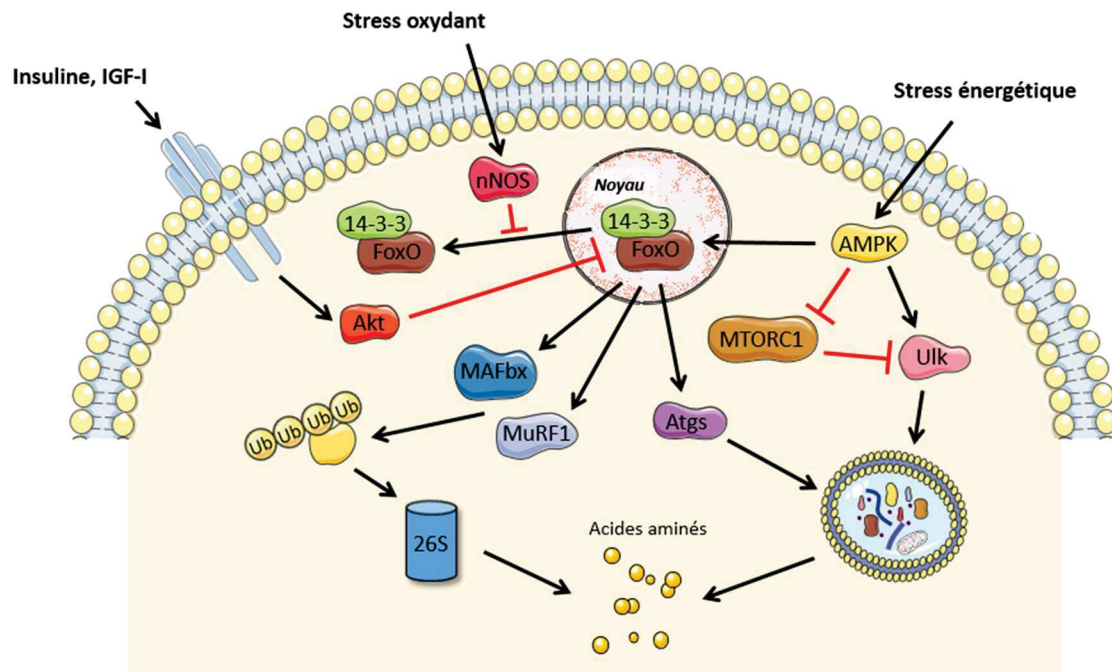


Figure 49 : Activation des facteurs de transcription FoxO dans la dégradation protéique

L'expression des protéines FoxOs est suffisante pour promouvoir l'activation des voies de dégradation liées au protéasome et à l'autophagie et induire l'atrophie dans le muscle squelettique *in vivo*³⁶². FoxO peut aussi réduire l'activité de synthèse en activant indirectement TSC2, permettant de stimuler son effet inhibiteur sur MTORC1¹⁵⁵. A l'inverse, l'inhibition des FoxOs par shRNA bloque l'expression de MAFbx lors de l'atrophie³⁷⁵. L'homéostasie du muscle strié squelettique n'est donc pas limitée à Akt mais implique aussi les facteurs FoxO, et particulièrement FoxO1 et FoxO3^{37,368}. Les facteurs de transcription FoxOs sont donc essentiels pour le contrôle de la balance protéique musculaire et assurent avec la voie Akt/MTORC1 l'équilibre optimal entre synthèse et dégradation protéique.

b. Voie AMPK/FoxO

Dans le muscle strié squelettique, la voie AMPK (protéine kinase AMP dépendante) peut induire l'activation de FoxO1 et FoxO3 indépendamment d'Akt³⁷⁰. Cette enzyme clé du métabolisme musculaire agit comme un senseur de l'état énergétique de la cellule et permet de maintenir une

quantité élevée d'ATP disponible¹⁹⁹. En cas de carence énergétique, la concentration intracellulaire ATP diminue et celle en AMP (adénosine monophosphate) augmente, induisant l'activation de AMPK¹⁹⁹ qui va alors phosphoryler FoxO3 sur différents sites³⁶⁷(Figure 49). Lors d'un stress énergétique, l'activation de FoxO3 induite par AMPK est alors associée à une élévation de l'expression de MAFbx et MuRF1³⁷⁰. Il est à noter que AMPK inhibe également MTORC1 en phosphorylant RAPTOR, entraînant sa rétention par la protéine chaperonne 14-3-3³⁶⁹.

Chez l'Homme, le système autophagique-lysosomal est également associé à l'atrophie musculaire et implique l'activation de FoxO1 et FoxO3 suite à l'inhibition d'Akt³⁶⁸. L'activation et la stabilisation de FoxO3 par AMPK conduit à l'augmentation des marqueurs de l'autophagie comme Ulk1, Beclin, LC3-II et GabarapL1^{367,370}. L'activité de FoxO permet de réguler à la fois le système ubiquitine protéasome grâce à la transcription de MAFbx et MuRF1 et le système autophagique-lysosomal *via* différents gènes impliqués dans l'autophagie, dont Ulk^{367,370}. Leurs activités sont régulées non seulement par les stimuli anabolisants mais également par le stress énergétique et le stress oxydant.

Chez les athlètes entraînés en résistance, la pratique d'exercice en endurance peut induire l'activation de la voie AMPK conduisant à l'inhibition de MTORC1⁴⁰². La stimulation de AMPK induite par les exercices en aérobie intenses pourrait être de nature à freiner la voie canonique de synthèse des protéines Akt/mTOR stimulée par l'exercice en résistance. Cependant, l'implication de la voie AMPK dans le phénomène d'interférence reste controversée. Si la stimulation pharmacologique de la voie AMPK parvient à diminuer l'activation de MTORC1 induite par l'exercice en résistance chez le modèle animal, cette stimulation chez l'Homme n'a qu'un impact minime sur l'activité de MTORC1¹⁷⁷. Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent l'effet d'interférence chez l'Homme sont donc encore méconnus, et l'inhibition de MTORC1 par la voie AMPK ne semble pas être le seul mécanisme impliqué¹⁷⁷.

Un autre mécanisme, impliquant p53, pourrait être à l'origine de l'effet d'interférence³⁸⁷. L'expression de p53 est induite par l'exercice en endurance, mais aussi par l'âge et le stress oxydant, et agit à la fois sur MTORC1 et sur la biogenèse des ribosomes³⁸⁷. L'expression de p53 régule positivement la sestrine, dont l'action inhibe le recrutement de mTOR à son activateur, la protéine Rheb³⁸⁷. L'augmentation de p53 pourrait donc indirectement conduire à l'inhibition de MTORC1 par le biais de cette protéine³⁸⁷. Par ailleurs, l'expression de p53 conduit à la déstabilisation de l'interaction des facteurs de transcription essentiels à la biogenèse des ribosomes comme UBF, diminuant l'activité de Pol I et limitant la production de l'ARN pré-ribosomique 45S³⁸⁷. De façon cohérente, l'induction de p53 dépend de l'amplitude du stress métabolique de la cellule musculaire et son expression majorée pourrait correspondre à un effet d'interférence prononcé³⁸⁷.

c. Voie associée à la myostatine

La myostatine est une protéine de la famille des TGF β (Transforming Growth Factor β) synthétisée par le muscle. Agissant comme un régulateur négatif de la croissance musculaire, plusieurs mutations de la myostatine provoquent une hypertrophie musculaire et une hyperplasie des fibres⁷⁷. De la même façon, la follistatine peut aussi mener à une hypertrophie des muscles, parfois plus importante que la seule déficience en myostatine⁷⁷. La follistatine interagit avec d'autres membres de la famille des TGF β , comme l'activine A, agissant aussi comme un régulateur négatif de la masse musculaire⁷⁷. La signalisation cellulaire associée à la myostatine et à l'activine A impliquent une inhibition de la voie PI3K/Akt/MTORC1 menant à la réduction du flux de synthèse protéique et de la taille des fibres^{37,382}. Sur des cellules musculaires mises en culture, l'ajout de myostatine provoque la surexpression de MAFbx et MuRF1, sous le contrôle du facteur de transcription FoxO1. Le traitement par la myostatine inhibe la phosphorylation de FoxO1 par Akt, permettant l'expression des E3 ligases. Inversement, l'expression de la myostatine peut être régulée par FoxO1, indiquant qu'il n'existe pas seulement une simple interaction, mais plutôt une synergie entre la voie Akt/FoxO et la voie associée à la myostatine³⁷. Les membres de la famille des TGF β comme la myostatine sont capables d'activer les MAPKs, parmi lesquelles p38 et ERK1/2³²². Il est également important de noter que la protéine ERK1/2 régule l'expression de la myostatine par l'intermédiaire de MEF-2³¹.

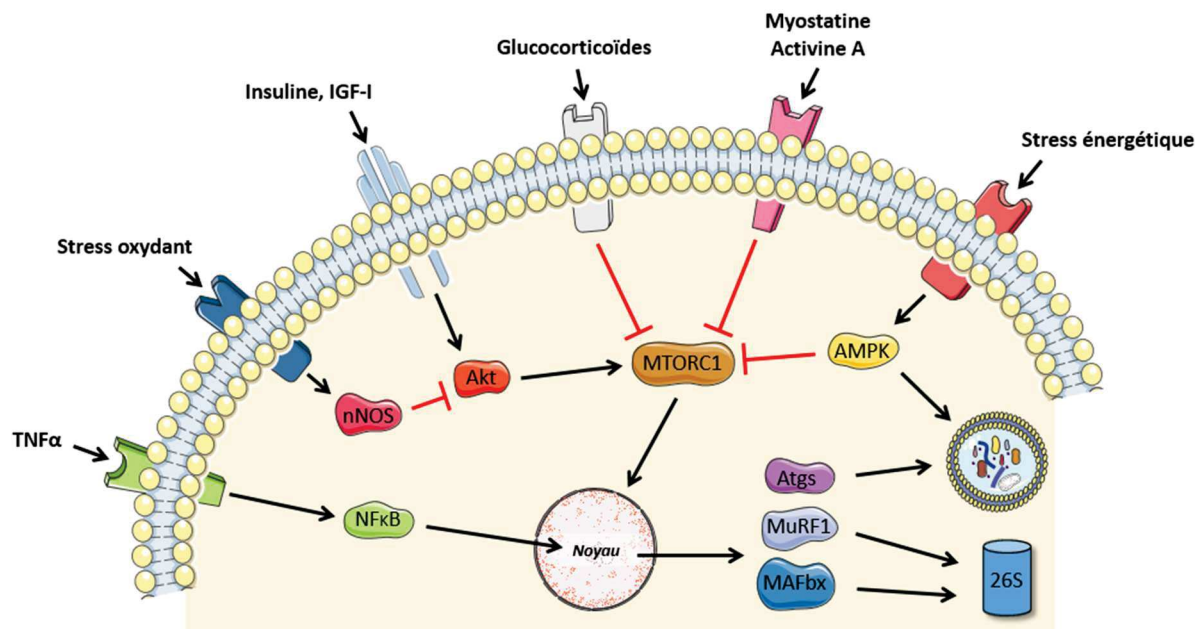


Figure 50 : Principales voies de signalisation cellulaire menant à l'atrophie musculaire

L'atrophie musculaire est ainsi le résultat d'une augmentation de l'activité de nombreuses voies cataboliques dont les principales ont été présentées (Figure 50). D'autres voies de signalisation cellulaires participent à la régulation de la dégradation protéique, comme la signalisation NFκB (Nuclear factor Kappa B) associée à l'apoptose²¹⁵. Cette voie de la mort cellulaire programmée est impliquée dans de nombreux types d'atrophie musculaire. En réponse à l'inflammation et particulièrement à la cytokine inflammatoire TNFα (Tumor Necrosis Factor-α), NFκB d'ordinaire séquestré dans le cytoplasme peut effectuer sa translocation nucléaire et permettre la transcription de gènes²⁹⁹. L'activation de l'apoptose conduit à l'activation de protéases à cystéine, les caspases, qui ont un rôle dans l'organisation et le clivage de protéines myofibrillaires comme l'actine dont la dégradation est ensuite assurée par le protéasome³⁷³.

L'atrophie associée à la voie NFκB implique une surexpression de MuRF1 mais pas de MAFbx⁵⁶. Dans de nombreuses pathologies, les cytokines inflammatoires sont présentes à des taux élevés et entraînent une résistance à l'insuline mais aussi l'inhibition de l'axe IGF-1/Akt^{10,100}. Les glucocorticoïdes comme la cortisone, anti-inflammatoires couramment prescrits, ont aussi un effet activateur de la dégradation protéique en entraînant l'inhibition de MTORC1⁴⁴⁰, mais aussi l'induction de MAFbx, de MuRF1 ou encore de la myostatine^{70,380}. D'autres systèmes participent à la régulation de la dégradation protéique, comme les calpaïnes, dont l'action protéolytique est dirigée contre certaines protéines du sarcomère et du cytosquelette³⁶².

2.4. Approches thérapeutiques d'inhibition de la dégradation protéique

L'ensemble des résultats obtenus jusqu'alors montrent que de nombreux mécanismes sont impliqués dans l'activation de la dégradation protéique menant à l'atrophie musculaire. Par ailleurs, ces données indiquent que ces voies de signalisation cellulaire peuvent interagir entre elles mais sont aussi interconnectées avec les processus de synthèse protéique. Grâce à l'amélioration des connaissances sur ces mécanismes, plusieurs approches thérapeutiques ont pu voir le jour pour tenter d'inhiber la dégradation protéique.

L'inhibition du protéasome, avec par exemple le MG132, empêche l'activation de NFκB *in vitro*²¹⁵. Le traitement permet de conserver la masse musculaire en diminuant l'expression de MAFbx et MuRF1 *in vivo*²¹⁵. Un autre inhibiteur, le Velcade, cible directement le complexe du protéasome sans modifier l'ubiquitination des protéines²¹⁵. En revanche, les stratégies basées sur l'inhibition de l'autophagie ne protègent pas de l'atrophie du muscle induite par le jeûne et la dénervation, mais au contraire, contribuent largement à sa dégénérescence³⁷⁴. L'action négative des glucocorticoïdes sur l'activité de synthèse protéique peut être atténuée par l'ablation des glandes surrénales sécrétrices de cortisol et de

cortisone mais aussi par des molécules antagonistes de leurs récepteurs comme le RU486. Ces traitements atténuent l'atrophie dans la plupart des maladies³⁸⁰ mais leurs effets restent controversés⁷⁷.

Les travaux sur la signalisation NFκB ont montré que l'expression d'un mutant de ses inhibiteurs, l'IkB, permettait de réduire l'atrophie provoquée par dénervation¹⁹⁴. Les souris invalidées pour le gène IKKβ, inactivant naturellement IkB dans la cellule musculaire, sont résistantes à l'atrophie et présentent une hyperphosphorylation d'Akt²⁸⁶. Une autre protéine de la famille du TNFα, TWEAK (TNF-like weak inducer of apoptosis), impliquée dans l'apoptose, induit l'activation de NFκB et l'expression de MuRF1 sans impacter l'expression de MAFbx lors d'une dénervation²⁷⁹. Les souris invalidées pour le gène codant pour la protéine TWEAK sont résistantes à l'atrophie induite par dénervation et présentent à la fois une réduction de l'activation de NFκB et de l'expression de MuRF1²⁷⁹.

D'autres recherches se sont intéressées à la signalisation AMPK et ont permis la mise au point d'un mimétique de l'exercice connu sous le nom d'AICAR (5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucléotide)³⁶². Utilisé comme activateur de AMPK, l'AICAR simule un stress énergétique au sein de la cellule musculaire⁷⁷. Chez l'animal, l'administration d'AICAR permet de lutter contre l'obésité, augmente la sensibilité à l'insuline, diminue les taux de cytokines inflammatoires et améliore les capacités de résistance à la fatigue lors d'un effort d'endurance en augmentant l'activité d'oxydation des lipides⁷⁷. L'AICAR ne semble donc pas modifier la balance protéique musculaire mais plutôt amplifier le métabolisme oxydatif⁷⁷ et a ainsi été utilisé à des fins de dopage. Comme l'EPO, l'AICAR est désormais sur la liste des produits interdits par l'Agence Mondiale Anti-Dopage.

Le blocage de la myostatine fait aussi partie des stratégies thérapeutiques à l'étude pour atténuer l'atrophie musculaire. Dans des cellules musculaires en culture, l'ajout de myostatine provoque la surexpression de MAFbx et MuRF1 par inhibition d'Akt⁷⁷. Chez l'humain présentant une sarcopénie associée ou non à une maladie chronique, l'inhibition de la myostatine par injection d'un anticorps spécifique permet de prévenir le remodelage musculaire voire d'améliorer la fonction musculaire. Plusieurs essais cliniques sont aussi en cours chez des patients présentant différents types de cancer⁷⁷. D'autres membres de la famille des TGFβ comme le GDF5 (Growth Differentiation Factor 5) font partie des cibles thérapeutiques potentielles pour diminuer l'activité de dégradation protéique⁷⁷. La surexpression de GDF5 ou de sa signalisation en amont permet de limiter à la fois la perte de masse et de fonction musculaire chez la souris au cours du vieillissement⁴²⁸. Certains agents permettant aussi de bloquer les récepteurs aux TGFβ sont à l'étude et montrent des résultats encourageants⁷⁷.

Récemment, l'Université de Stanford a mis en évidence l'intérêt thérapeutique de l'enzyme 15-PGDH (15-hydroxy Prostaglandin Dehydrogenase) dégradant la prostaglandine E2 (PGE2)³¹⁵. Son inhibition

par différentes méthodes chez l'animal âgé empêche l'atrophie musculaire et parvient même à augmenter la masse musculaire, la force et l'endurance³¹⁵. Cette découverte souligne aussi l'importance de la cytokine PGE2 dans le maintien de la masse musculaire à l'âge adulte. Les mécanismes sous-jacents des effets de l'inhibition de la 15-PGDH sont encore à l'étude mais impliquent une amélioration de la biogenèse et de la fonction mitochondriale couplée à une diminution de la signalisation associée au système ubiquitine-protéasome et aux membres de la famille des TGF β ³¹⁵.

D'autres approches thérapeutiques sont encore à l'étude, dont celles basées sur l'IGF-1, un facteur de croissance synthétisé au niveau local par de nombreux tissus dont le muscle strié squelettique. La surexpression d'IGF-1 chez l'animal favorise la croissance musculaire et confère une résistance à l'atrophie⁴⁰³. L'injection locale d'IGF-1 suffit à bloquer l'atrophie en supprimant l'induction des deux ubiquitines ligases MAFbx et MuRF1⁴¹². D'autres stratégies pour activer l'axe PI3K/Akt/MTORC1 et inhiber la voie IGF-1/Akt/FoxO ont été basées sur l'électroporation d'Akt sous sa forme active. Des souris adultes surexprimant Akt présentent une hypertrophie musculaire et sont protégées contre l'atrophie induite par dénervation²¹⁹. La surexpression d'Akt est donc capable de favoriser simultanément la croissance musculaire et de bloquer la dégradation protéique²¹⁹.

Enfin, les micro-ARNs ou miRNAs, constitués d'une vingtaine de nucléotides, sont capables de réguler l'expression de certains gènes en s'appariant à des ARNm^{129,287}. Les miRNAs sont impliqués dans la régulation de la masse musculaire et constituent une cible thérapeutique potentielle. L'expression de miR-21 dans les cellules satellites et les muscles pourrait inhiber la myogenèse chez la souris âgée et contribuer au déclin de la régénération musculaire au cours du vieillissement⁴⁰. D'autres miRNAs, tels que miR-23a, miR-27a, miR-29b, miR-29c, sont impliqués dans la régulation de la masse musculaire squelettique⁴⁰². Les variations des niveaux de méthylation de différents gènes en réponse à l'exercice suggèrent que les miRNAs, de même que les modifications épigénétiques et post-traductionnelles, pourraient avoir un rôle important dans l'homéostasie musculaire⁴⁰².

Plusieurs miRNAs présentent des niveaux d'expression anormaux et semblent participer à la dysfonction musculaire chez le patient hémodialysé en agissant sur différentes voies cellulaires⁴⁴². L'expression de miR-23a, diminuée chez le patient IRC, régule la traduction de MAFbx et MuRF1 tandis que miR-27, inhibé lors de l'atrophie musculaire et sensible à la disponibilité en acides aminés comme la leucine, module l'expression de la myostatine⁴⁴². D'autres candidats comme miR-29, miR-133, miR-206 et miR-486 pourraient moduler la balance protéique musculaire chez le patient souffrant d'IRCT en agissant sur la réponse à l'insuline et la régulation de la myostatine⁴⁴². Enfin, il semble exister un groupe de miRNAs commun à plusieurs pathologies chroniques incluant l'IRCT, le cancer, la BPCO ou

l'insuffisance cardiaque, toutes associées à une dysfonction musculaire, suggérant que certains « AtromiRs » pourraient être spécifiques de l'atrophie musculaire quelle qu'en soit la cause primaire^{431,457}.

Les découvertes récentes ont approfondi les connaissances sur les mécanismes de l'atrophie musculaire et ont permis d'identifier plusieurs protéines ayant un rôle crucial dans le remodelage musculaire, comme MAFbx, MuRF1, les facteurs de transcription FoxOs, le facteur nucléaire NFκB mais aussi ATF4, Gadd45a, p21, MEKK4, les SMADs, TRIM32 (Tripartate Motif-containing protein 32), PGC1α (Peroxisome proliferator-activated receptor-γ Coactivator 1α), SIRT1 (Sirtuin1) et JUNB^{77,104}. Cependant, les essais thérapeutiques actuels n'ont pas permis de développer de thérapie efficace et dénuée d'effets secondaires. La fonction sécrétoire du tissu musculaire reste aussi à explorer, et particulièrement sa capacité à libérer des myokines au niveau systémique en réponse à l'exercice^{327,447}. Ces myokines étant dérégulées dans de nombreux contextes pro-atrophiques, la restauration de leurs niveaux physiologiques semble être une stratégie prometteuse^{327,447}. La recherche d'autres cibles thérapeutiques permettant de restaurer la balance protéique musculaire dans le cadre du déconditionnement musculaire et de la sarcopénie doit ainsi être poursuivie.

3. Rôle de eIF3f dans la balance protéique musculaire

Dans cette optique, les travaux originaux menés au laboratoire DMEM ont permis d'identifier le rôle du facteur d'initiation de la traduction eIF3f dans le contrôle de la synthèse protéique. Appelé aussi p47, eIF3f est une des 13 sous-unités du complexe d'initiation de la traduction eIF3 (800 kDa), un important complexe protéique requis dans plusieurs étapes de l'initiation de la traduction des ARNm en protéines fonctionnelles^{138,265,371}. eIF3 reste à ce jour le plus grand et le plus étudié des facteurs d'initiation connus^{168,204}. Le complexe eIF3 joue un rôle dans différentes étapes de la traduction de l'ARNm, dont l'assemblage du complexe ternaire eIF2-GTP-Met-ARNt ainsi que son intégration dans la sous-unité ribosomale 40S pour former le complexe de préinitiation (PIC) 43S⁴⁰². eIF3 intervient aussi dans le recrutement des ARNm jusqu'au PIC 43S et dans leur balayage pour reconnaître le codon AUG marquant le début de séquence à traduire⁴⁰².

Le facteur d'initiation de la traduction eIF3f (Figure 51) possède un domaine MPN (Mpr1/Pad1/N-terminal) et un motif TOS (TOR signaling)²⁵⁸. Cette structure permet à eIF3f de servir de protéine échafaudage pour connecter MTORC1 à son effecteur et cible de phosphorylation S6K1^{88,371}. La forme inactive de S6K1, non phosphorylée, interagit directement avec eIF3f *via* son domaine Mov34 tandis que la liaison avec MTORC1 est effectuée grâce au motif TOS comprenant les acides aminés FETML

(résidus 323-327)³⁷¹. Le domaine Mov34 de eIF3f interagit aussi directement avec l'ubiquitine ligase MAFbx²¹⁸.

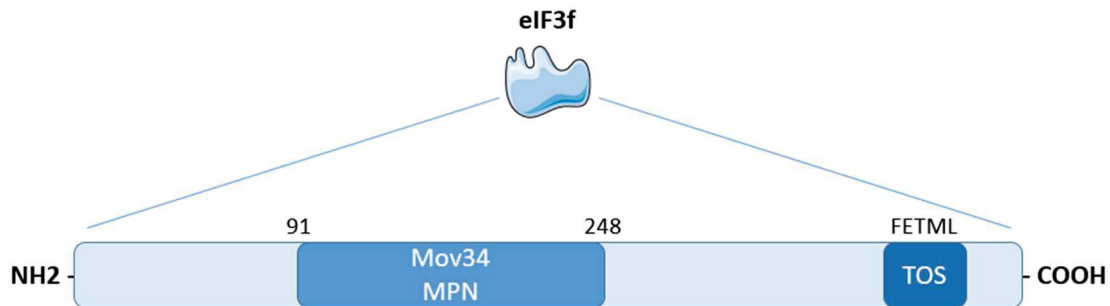


Figure 51 : Structure du facteur d'initiation de la traduction eIF3f

3.1. Rôles de eIF3f *in vitro*

Les données disponibles concernant les fonctions de eIF3f, obtenues principalement à partir de cultures de myoblastes et de cellules satellites, montrent que ce facteur d'initiation de la traduction est un régulateur primordial de la balance protéique musculaire^{88,258,371}. Les résultats obtenus *in vitro* au sein de notre laboratoire ont montré que la surexpression de eIF3f dans les myotubes permet d'induire une hypertrophie (Figure 52) associée à une augmentation de la phosphorylation des substrats de MTORC1 (S6K1 et 4EBP1) et de la synthèse protéique⁸⁶. A l'inverse, il a aussi été mis en évidence que l'inhibition de l'expression de eIF3f entraîne une atrophie des myotubes associée à une diminution de la synthèse protéique⁸⁷. Chez les mammifères, le facteur d'initiation eIF3f est ainsi un régulateur important de l'activité MTORC1 et donc de l'hypertrophie musculaire⁴⁰².

A l'état basal, le domaine Mov34 de eIF3f interagit avec la forme hypophosphorylée, et donc inactive, de S6K1³⁷². Lors d'une stimulation de la synthèse protéique dépendante de MTORC1, le complexe se lie à eIF3f et induit la phosphorylation de S6K1³⁷². La forme active de S6K1 est alors relarguée et peut phosphoryler ses substrats³⁷². Par ailleurs, eIF3f permet le recrutement de eIF4G, de la protéine Raptor et de rpS6, suggérant que ce facteur n'est pas seulement un activateur de la traduction mais est aussi nécessaire à l'assemblage du complexe de pré-initiation⁸⁶.

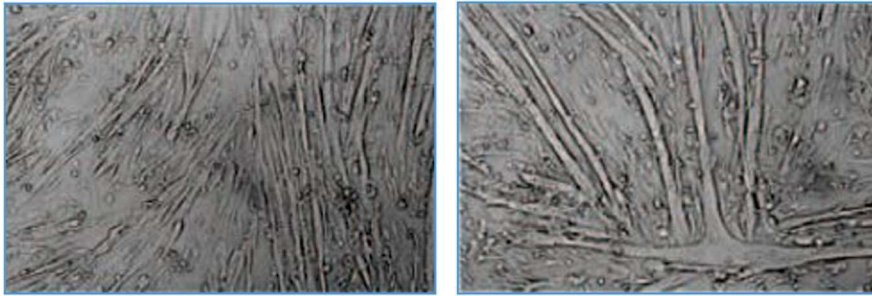


Figure 52 : Surexpression de eIF3f (à droite) et hypertrophie des myotubes par rapport à une situation contrôle (à gauche)

Il a récemment été montré que eIF3f pouvait aussi exercer un rôle dans l'adaptation du muscle en réponse à l'exercice. En utilisant les techniques d'immunofluorescence, il a été montré que le complexe MTORC1 et eIF3f migraient dans la cellule musculaire au cours d'un exercice¹⁶⁹. Au repos, chez l'Homme, la protéine mTOR est co-localisée avec la protéine lysosomale LAMP2 (lysosomal-associated membrane protein 2) suggérant qu'en condition basale, mTOR se localise près des lysosomes dans le muscle strié squelettique⁴⁰⁴. A l'exercice, le complexe formé par mTOR et LAMP2 migre vers la membrane cellulaire à proximité des vaisseaux capillaires⁴⁰⁴. Le recrutement de MTORC1 à la membrane du lysosome avait précédemment été démontré. Cette localisation apparait essentielle à l'activité de la kinase mTOR, et ce principalement parce que son activateur, la protéine Rheb, est associée à la membrane lysosomale^{402,404}.

L'interaction entre MTORC1 et eIF3f au niveau de la membrane cellulaire est augmentée après l'exercice et cette augmentation est exacerbée lorsque l'exercice est couplé à un apport nutritionnel⁴⁰². L'augmentation de l'interaction entre MTORC1 et eIF3f est alors associée à une élévation de l'activité de S6K1 et du flux de synthèse protéique après la pratique d'exercice couplée à une supplémentation en acides aminés^{402,404}. La translocation de MTORC1 vers les lysosomes est médiée par le complexe Ragulator-Rag et joue un rôle pivot dans l'activation de la synthèse protéique dépendante de MTORC1 en réponse à la disponibilité en acides aminés⁴⁰⁴. En accord avec ces observations, la présence du complexe inhibiteur TSC2 au niveau de la membrane cellulaire apparait comme réduite après l'exercice de façon concomitante à la dissociation avec la protéine Rheb⁴⁰⁴. La migration de MTORC1 et son interaction avec eIF3f constituent ainsi des facteurs déterminant l'activité de la synthèse protéique.

Il apparait aussi que le facteur d'initiation de la traduction eIF3f présente des fonctions ambivalentes en fonction du type cellulaire. Dans les cellules cancéreuses, eIF3f inhibe la croissance cellulaire, d'une part en régulant négativement la traduction protéique, et d'autre part en augmentant la dégradation

des ARN ribosomiques^{258,444}. eIF3f peut ainsi s'associer directement avec la protéine hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) requise pour stabiliser les ARN ribosomiques (ARNr)⁴⁴⁴. L'interaction entre eIF3f et hnRNP provoque la dissociation de la liaison établie entre les rRNA et hnRNP menant à la dégradation des ARN ribosomiques⁴⁴⁴. L'expression de eIF3f peut aussi diminuer la croissance tumorale en interagissant avec la clusterine, une glycoprotéine sécrétrice, en inhibant ses propriétés anti-apoptotiques²³³.

L'expression de eIF3f diminue dans des conditions pro-atrophiques comme le traitement aux glucocorticoïdes, la mise à jeun ou le stress oxydant⁴⁰². En condition pro-atrophique, le domaine Mov34 interagit avec l'ubiquitine ligase MAFbx²¹⁸. Cette association rend eIF3f cible de polyubiquitination, provoquant sa dégradation par le protéasome 26S⁸⁷. Dans un modèle d'atrophie induite, la dégradation de eIF3f supprime l'activation de S6K1 par mTOR⁸⁶ alors que l'inhibition de MAFbx ou du protéasome 26S limite cette diminution²¹⁸.

La baisse du niveau d'expression de eIF3f entraîne l'atrophie des myotubes qui est associée à une diminution de la phosphorylation des substrats de MTORC1⁸⁶. Il apparaît que six résidus lysines situés à l'extrémité C-terminale de eIF3f sont nécessaires à la polyubiquitination induite par MAFbx⁸⁷. La mutation de ces résidus en arginine augmente la stabilité de eIF3f et l'expression de ce mutant (eIF3f-K5-10R) permet d'atténuer l'atrophie des myotubes en maintenant les niveaux de phosphorylation de S6K1 et rpS6⁴⁰². Enfin, la surexpression de eIF3f-K5-10R induit une augmentation de la synthèse protéique et une hypertrophie des myotubes en conditions normales^{86,87}.

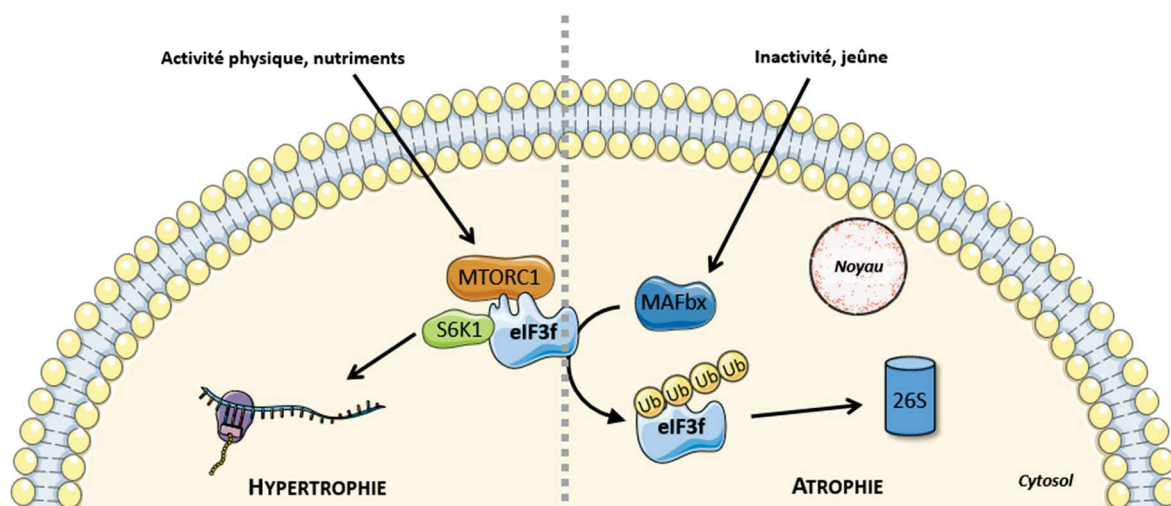


Figure 53 : Rôle de eIF3f dans la balance protéique musculaire

Au sein de l'antagonisme entre hypertrophie et atrophie musculaire, le facteur d'initiation de la traduction eIF3f exerce ainsi un rôle pivot (Figure 53) : il est à la fois activateur de la synthèse protéique en régulant l'activité du complexe MTORC1, et substrat des voies de dégradation liées au système ubiquitine-protéasome^{258,371}. Au niveau moléculaire, eIF3f possède un rôle fondamental dans la régulation de la masse musculaire au travers du contrôle de la voie signalétique associée à MTORC1 d'une part, et de sa propriété de substrat de l'ubiquitine ligase MAFbx d'autre part^{258,371}.

Les résultats obtenus *in vitro* au laboratoire nécessitent d'être confirmés *in vivo*, afin de mieux caractériser le rôle de la protéine eIF3f dans la régulation de l'équilibre entre synthèse et dégradation protéique dans différentes conditions physiologiques et physiopathologiques. Pour ce faire, deux modèles exclusifs ont été développés au laboratoire et constituent des outils d'étude incontournables : des souris hétérozygotes KO pour le gène eIF3f (eIF3f +/-), et des souris double transgéniques exprimant la forme mutante (eIF3f K5-10R) de ce même gène (eIF3f Tg/Tg).

3.2. Modèle de souris invalidées

L'obtention des cellules souches embryonnaires a été réalisée par la société VelociGene en remplaçant la séquence codante de eIF3f par une séquence lacZ codant pour la β -galactosidase. La recombinaison homologue entre le gène eIF3f et la cassette d'expression lacZ a permis la production de cellules souches embryonnaires (ES) portant cette mutation.

a. Obtention des chimères

Les cellules ES invalidées pour le gène eIF3f ont été créées sur un fond génétique de souris C57Bl6. Au laboratoire, ces cellules ont été injectées dans des blastocystes de souris de fond génétique BalbC/N. Les embryons ont ensuite été implantés chez des souris pseudo-gestantes de fond B6CBAF1/J. Les chimères nées constituaient la première génération d'animaux (G0) et leur différence de couleur a permis de sélectionner ceux ayant intégré la mutation.

b. Génération d'animaux Knock-Out

Les chimères portant l'inactivation du gène eIF3f ont ensuite été croisées avec des souris sauvages de deux fonds génétiques différents. Les souris nées de ces accouplements sur fond C57Bl6/J et BalbC/N constituaient la deuxième génération d'animaux (G1). Issues d'un croisement avec des individus sauvages, les souris de la G1 étaient toutes hétérozygotes pour la mutation. Le génotypage des animaux permettait de confirmer la présence de la séquence lacZ. Ces souris hétérozygotes Knock-Out (KO) portaient à la fois un allèle eIF3f sauvage et l'allèle modifié. Le croisement des individus

hétérozygotes KO entre eux a été réalisé pour tenter d'obtenir des souris totalement invalidées pour le gène eIF3f, ou souris homozygotes KO (Figure 54).

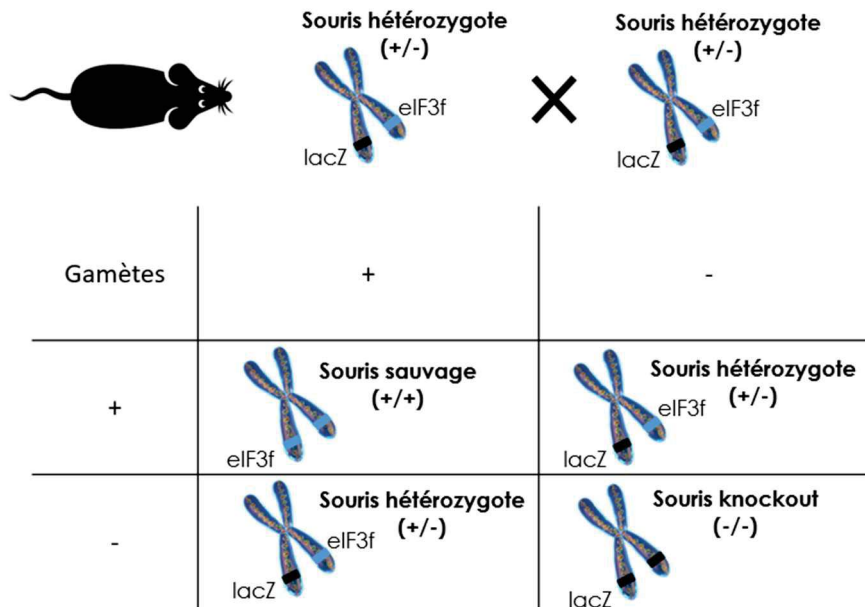


Figure 54 : Génération de souris invalidées pour le gène eIF3f

3.3. Modèle de souris transgéniques

La forme mutante de eIF3f, eIF3f K5-10R, présente une mutation de six résidus lysine en position C-terminale empêchant l'ubiquitination par MAFbx. Un transgène de eIF3f portant trois tags HA (hémagglutinine) et placé sous le contrôle du promoteur HSA (α -Human Skeletal Actin) a été utilisé pour la création du plasmide codant pour le transgène HA-eIF3f K5-10R.

a. Obtention des individus fondateurs

Des souris femelles de fond génétique C57Black6/J ont d'abord été soumises à un traitement hormonal provoquant une superovulation. Ces souris ont ensuite été accouplées avec des individus mâles de même fond génétique. Le lendemain, les embryons au stade une cellule ont été prélevés et sélectionnés. L'ADN transgénique a été inséré sous forme linéaire par micro-injection dans le pronucléus mâle avant d'injecter les œufs dans l'oviducte de femelles pseudo-gestantes. Cette opération de transgénèse classique a été réalisée au sein de la plateforme du laboratoire. Le génotypage des souris naissantes a permis de sélectionner les individus fondateurs (F0) ayant intégré le transgène de 6,4 kb (Figure 55) de façon aléatoire dans leur génome.

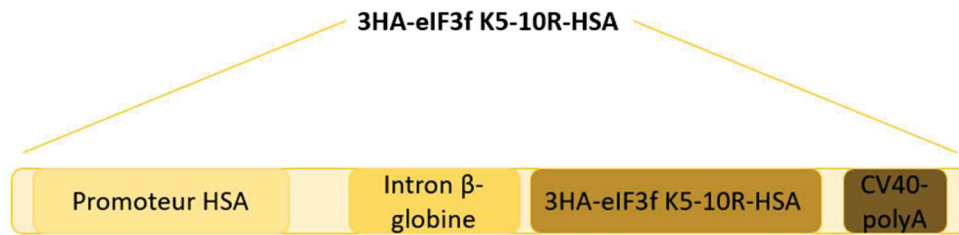


Figure 55 : Cartographie du transgène de eIF3f

b. Obtention d'individus double transgéniques

Les souris transgéniques ont été développées sur un fond C57Bl6/J. Les individus fondateurs exprimaient à la fois la forme sauvage de eIF3f codée par les deux allèles du gène original et la forme mutante codée par les insertions aléatoires du transgène. La protéine exogène pouvait ainsi être différenciée de la forme native grâce au repérage du tag HA par un anticorps spécifique. La présence du promoteur HSA permet de limiter l'expression du transgène uniquement au tissu musculaire strié squelettique. Les individus simple transgéniques (Tg/+) ont ensuite été croisés entre eux, permettant de générer des individus double transgéniques (Tg/Tg) et de stabiliser les niveaux d'expression protéique de la forme mutée de eIF3f dans les muscles des souris (Figure 56).









	 Souris sauvage (+/+)	 Souris double transgénique (Tg/Tg)
Muscle strié squelettique	eIF3f 	eIF3f HA-eIF3f K5-10R 
Muscle cardiaque	eIF3f 	eIF3f 
Autres tissus		

Figure 56 : Expression de eIF3f et de sa forme mutée eIF3f K5-10R chez les souris sauvages (+/+) et double transgéniques (Tg/Tg)

RESUME DU CHAPITRE IV

- L'**homéostasie** du muscle strié squelettique résulte d'un **équilibre** délicat entre les processus de **synthèse** et de **dégradation** des protéines qui définissent la **balance protéique musculaire**.
- L'augmentation de la synthèse protéique permet l'**hypertrophie** des fibres tandis que la stimulation de la dégradation protéique conduit à l'**atrophie musculaire**.
- L'**activation** de la synthèse protéique fait suite à des **stimuli anabolisants** comme l'apport nutritionnel, la disponibilité en acides aminés ou la quantité d'hormones mais l'**exercice physique** en est le plus puissant modulateur.
- La **régulation** de la synthèse et de la dégradation protéique fait appel à des mécanismes complexes impliquant des **voies de signalisation** cellulaires qui **communiquent** entre elles.
- L'axe **PI3K/Akt/MTORC1** constitue la voie principale d'activation de la synthèse protéique et MTORC1 détient un rôle central dans la **biogenèse des ribosomes** qui assurent la **traduction** de l'information génétique en **protéines** fonctionnelles.
- La dégradation protéique est majoritairement assurée par le **système ubiquitine-protéasome** et par l'**autophagie** qui dégradent le contenu protéique des fibres musculaires en condition d'**hypoactivité**, de **stress** ou de **privation nutritionnelle**.
- Les **stratégies thérapeutiques** développées jusqu'alors sont basées sur l'**activation** de la synthèse protéique ou sur l'**inhibition** des voies de dégradation mais l'**identification** de nouvelles **cibles** est nécessaire.
- Dans l'antagonisme entre hypertrophie et atrophie musculaire, **eIF3f** exerce un **rôle pivot** en étant à la fois **activateur** de la synthèse protéique et **substrat** des voies de dégradation, et pourrait constituer une **nouvelle cible** thérapeutique.

CHAPITRE V : ROLES PHYSIOLOGIQUES DE eIF3F

L'obtention des modèles animaux génétiquement modifiés exprimant des quantités différentes de eIF3f est une étape indispensable pour la meilleure compréhension des rôles physiologiques et physiopathologiques que joue ce facteur multipotent au cours du remodelage musculaire *in vivo*. Plusieurs problématiques ont été examinées pour approfondir les rôles et fonctions de eIF3f sur la balance protéique musculaire.

Etude #3 : Effets physiologiques de la déplétion partielle en eIF3f

Afin d'étudier l'impact de la baisse du niveau d'expression de eIF3f sur l'homéostasie de la masse musculaire *in vivo*, les souris hétérozygotes KO (eIF3f +/-) créées et élevées au laboratoire ont été étudiées au cours de leur développement puis en condition d'hypoactivité.

Rationnel scientifique et hypothèses

In vitro, il a été démontré que la diminution d'expression de eIF3f conduit à l'atrophie des myotubes tandis que sa surexpression induit leur hypertrophie. En agissant comme une protéine échafaudage entre MTORC1 et S6K1, eIF3f permet l'initiation de la synthèse protéique dépendante de cette voie de signalisation cellulaire. A l'inverse, en condition pro-atrophique, eIF3f devient une cible de polyubiquitination par MAFbx conduisant à sa dégradation par le protéasome et par conséquent à la diminution de l'activité de synthèse. Les études préliminaires sur les rôles de eIF3f au sein de l'antagonisme entre hypertrophie et atrophie musculaire ont ainsi été obtenues uniquement sur des modèles cellulaires, mais peu de choses étaient connues sur les fonctions de ce facteur d'initiation de la traduction dans des conditions physiologiques. La génération d'animaux invalidés pour le gène eIF3f apparaît alors comme un outil indispensable pour mieux cerner les rôles détenus par eIF3f sur la balance protéique musculaire *in vivo*.

De par l'impact du niveau d'activité physique sur la balance protéique musculaire, l'inactivité physique et l'exercice chronique constituent des conditions expérimentales particulièrement intéressantes à étudier. Dans cette étude, nous avons choisi d'analyser l'impact de la déplétion en eIF3f lors de l'atrophie musculaire induite. Parmi les modèles propices à l'étude de l'atrophie, le plus utilisé demeure la suspension du train arrière⁴³. D'autres modèles engendrent le même type de réponse tout en possédant certains avantages⁶⁶. Sur la base de la littérature puis de travaux préliminaires, nous avons comparé les différents modèles applicables, comme la dénervation ou l'immobilisation

bilatérale, avant de choisir le modèle d'immobilisation unilatérale qui semblait mieux correspondre à nos besoins.

Nouvellement développée au laboratoire, la technique d'immobilisation unilatérale de la patte arrière ne requiert pas d'équipement spécifique. Cette méthode validée chez la souris permet également la comparaison des muscles immobilisés avec les controlatéraux du même animal. Il est important de préciser que ces derniers ne présentent pas d'hypertrophie compensatoire²²¹. La comparaison des muscles des membres controlatéraux avec ceux des animaux de même âge et de même lignée permet de confirmer l'absence de mécanisme de compensation. Le membre controlatéral offre donc un contrôle interne fiable permettant aussi de réduire l'effectif d'animaux nécessaire à l'étude. De plus, l'intégrité de l'innervation de la musculature étant maintenue, à l'opposé du modèle de dénervation, la méthode n'altère pas la prise alimentaire et génère un faible niveau de stress.

Le premier objectif de cette étude est ainsi de caractériser le modèle animal invalidé pour *eIF3f* et de comprendre les effets phénotypiques que cette mutation entraîne sur un organisme entier. L'hypothèse principale de cette étude est que l'inactivation par recombinaison homologue du gène *eIF3f* chez ces animaux se traduit par une inhibition de l'expression de ce facteur. Les hypothèses secondaires de ce travail sont que les muscles squelettiques des animaux invalidés (i) présentent une diminution de l'activité de synthèse protéique (ii) qui s'accompagne d'une altération de l'activité de MTORC1 et de ses substrats (iii) pouvant impacter le développement du tissu musculaire (iv) et son maintien en réponse à l'atrophie induite par immobilisation de la patte. La vérification de ces hypothèses permettra de caractériser l'impact physiologique de la déplétion en *eIF3f* *in vivo* et de mieux cerner les rôles de ce facteur dans la balance protéique musculaire.

Implication personnelle

J'ai personnellement participé à la conception et à la mise en place des expérimentations relatives à l'immobilisation, au choix de la méthode d'immobilisation et à son développement au laboratoire, à la rédaction de la demande d'autorisation de protocoles expérimentaux pour la saisine APAFIS, à la gestion des lignées pour la production du nombre d'animaux nécessaires, à l'analyse de la composition corporelle des souris, à la dissection et au prélèvement des tissus, à la mesure du flux de synthèse protéique, à la détermination des surfaces de section, à la quantification des expressions protéiques et des ARNm, à l'acquisition et au traitement des données ainsi qu'à la rédaction de l'article dont je suis le second auteur. Cet article est intitulé :

***eIF3f* depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse**






Il a été publié en 2019 dans le *Journal of Physiology* dont l'impact factor est de 4,55.

Publication

J Physiol 0.0 (2019) pp 1–25

1

eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse

Aurélie Docquier¹, Laura Pavlin¹ , Audrey Raibon¹, Christelle Bertrand-Gaday¹ , Chamroeun Sar², Serge Leibovitch¹ , Robin Candau¹  and Henri Bernardi¹ 

¹INRA, UMR866 Dynamique Musculaire et Métabolisme, Université de Montpellier, Montpellier, France

²Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U-583, Institut des Neurosciences de Montpellier, Hôpital Saint Eloi, Montpellier, France

Edited by: Michael Hogan & Troy Hornberger

Key points

- In muscular cells, eukaryotic initiation factor subunit f (eIF3f) activates protein synthesis by allowing physical interaction between mechanistic target of rapamycin complex 1 (MTORC1) and ribosomal protein S6 kinase 1 (S6K1), although its physiological role in animals is unknown.
- A knockout approach suggests that homozygous mice carrying a null mutation of the *eIF3f* gene fail to develop and consequently die at early embryonic stage, whereas heterozygous mice associated with a partial depletion of *eIF3f* gene grow normally and are phenotypically indistinguishable from wild-type mice.
- Heterozygous mice express reduced eIF3f mRNA and protein levels in skeletal muscles and show diminished muscle mass associated with a decrease in the protein synthesis rate and an inhibition of the MTORC1 pathway.
- During hindlimb immobilization, heterozygous eIF3f mice display an exacerbated immobilization-induced muscle atrophy associated with reduced protein synthesis.
- These results highlight the essential role of eIF3f during embryonic development and its involvement in muscular homeostasis via protein synthesis regulation.

Abstract Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit F (eIF3f), a component of eIF3 complex, plays an important role in protein synthesis regulation, although its physiological functions are unknown. We generated and analysed mice carrying a null mutation in the *eIF3f* gene. We showed that homozygous eIF3f knockout fail to develop and that eIF3f^{-/-} embryos die at an early stage of development but after the pre-implantation stage. However, disrupting one eIF3f allele does not affect growth, viability and fertility of heterozygous mice but, instead,

Aurélie Docquier obtained her PhD in 2010 at Institute of Cancerology in Montpellier (INSERM Unit). She worked on transcription regulation in breast cancer cells. She continued with a postdoctoral stage in UMR866, INRA Unit, from 2012 to 2014. The subject was the identification of muscle mass modulatory in an animal model and in a cancer cachexia model. These experiences allowed her to obtain robust skills in molecular and cellular biology and animal physiology in cancer domain. She currently works as a R&D Laboratory Manager at Orega-Biotech, specialized in cancer antibody therapy. **Laura Pavlin** is a thesis student in the Muscular Dynamics and Metabolism Laboratory of Montpellier (UMR866, INRA unit). Her degree in Exercise Physiology allows her to study responses of skeletal muscle to various stimuli. Her work focuses on mechanisms regulating muscular homeostasis in animal model and in patients undergoing dialysis in collaboration with AIDER Santé dialysis unit of Montpellier.



reduces eIF3f mRNA and protein levels in all tissues examined. Although heterozygous mice are phenotypically indistinguishable from wild-type mice, they present a diminished body weight and a lean mass reduction associated with normal body size. Interestingly, skeletal muscles are mainly affected and display an altered cell size without modification of fibre number. Skeletal muscles of heterozygous mice show a deficiency in polysome content, a decrease in protein synthesis rate and an inhibition of the mechanistic target of rapamycin (MTOR) pathway. We then studied the effects of hindlimb immobilization that mimics muscle disuse on heterozygous mice aiming to further explore the involvement of eIF3f in protein synthesis. We found that eIF3f partial depletion amplifies muscle atrophy compared to wild-type mice. Mass and cross-sectional area decreases were associated with reduced MTOR pathway activation and protein synthesis rate. Taken together, our data indicate that eIF3f is essential for mice embryonic development and controls adult skeletal muscle mass via protein synthesis regulation in a MTOR-dependent manner.

(Received 15 February 2019; accepted after revision 24 April 2019; first published online 7 May 2019)

Corresponding author H. Bernardi: INRA, UMR866 Dynamique Musculaire et Métabolisme, 2 place Viala, 34060 Montpellier, France. Email: henri.bernardi@inra.fr

Introduction

Humans have more than 650 muscles, representing ~40% of the total body weight, making them the largest tissue mass and the major amino acid reservoir in the body (Bergström *et al.* 1974; Wagenmakers, 1998). Striated skeletal muscles are the organs that are responsible for voluntary locomotion, and their growth and contractile properties mainly depend on the turnover of contractile proteins. By regulating the dynamic balance between anabolic and catabolic processes, skeletal muscles have the capacity to continuously regulate their size in response to a variety of physiological and pathophysiological conditions (Bodine, 2006; Sandri, 2008). In this context, eukaryotic translation initiation factors (eIFs) involved in the initial steps of translation play an essential role (Jackson *et al.* 2010; Gomes-Duarte *et al.* 2018). Among the eIFs, eIF3 is the largest and most complex initiation factor, and operates in the assembly of the ternary complex eIF2/GTP/Met-tRNA, as well as the binding of this complex and other components of the 43S PIC to the 40S ribosomal subunit, in mRNA recruitment to the 43S PIC, in scanning mRNA for AUG recognition, and in ribosome dissociation (Majumdar *et al.* 2003; Kolupaeva *et al.* 2005; Hinnebusch, 2006). The importance of this complex in muscular homeostasis is highlighted by its numerous regulations. In response to nutrients, hormones and mitogens, the protein kinases mechanistic target of rapamycin (MTOR) and S6K1 regulate its activity positively, whereas both E3 ligases MAFbx and TRC8 restrict it (Holz *et al.* 2005; Lagirand-Cantaloube *et al.* 2008; Lee *et al.* 2010). Molecular studies on striated muscle cells showed that these proteins interact specifically with the subunit f of the eIF3 complex (Lagirand-Cantaloube *et al.* 2008; Lee *et al.* 2010). eIF3f (p47) is essential for *Schizosaccharomyces pombe* viability, and its depletion

markedly decreases the global protein synthesis in fission yeast (Zhou *et al.* 2005). In non-muscle mammalian cells, eIF3f acts as a negative regulator of translation and inhibits protein synthesis at the translational level without affecting the mRNA level (Shi *et al.* 2003, 2006). In cancer cells, eIF3f overexpression regulates cell growth negatively by disrupting translation efficiency and activation of apoptosis (Shi *et al.* 2006, 2009; Wen *et al.* 2012; Marchione *et al.* 2015). Recently, Martin *et al.* (2018) reported that a missense variant of the *eIF3f* gene was associated with developmental disorders in humans.

Surprisingly, in differentiated myotubes, eIF3f plays opposing roles on protein synthesis. By acting as a scaffold protein that interconnects MTOR/raptor with S6K1, this factor positively controls the mTORC1 pathway (Csibi *et al.* 2010; Goodman *et al.* 2011b). Under normal conditions, inactive S6K1 is bound to eIF3f and, upon mitogenic stimulation, MTOR binds to eIF3f and then phosphorylates and activates S6K1 (Csibi *et al.* 2008). The latter is released from eIF3f and is able to phosphorylate its substrates, leading to an enhanced translational capacity and muscular hypertrophy (Sanchez *et al.* 2013). In starved muscle cell models, MAFbx interacts with the MOV domain of eIF3f and promotes its ubiquitination resulting in proteasome-mediated degradation of eIF3f (Csibi *et al.* 2009). *In vitro*, a decrease in the phosphorylation of mTORC1 substrates subsequent to the loss of eIF3f induces atrophy of myotubes (Marchione *et al.* 2013). Despite these studies that were mainly carried out on cellular models, the physiological role of eIF3f in muscle homeostasis remains unclear. Furthermore, the importance of mammalian eIF3f in embryonic development is unknown.

In the present study, we developed a knockout (KO) approach to address the *in vivo* functions of eIF3f in mice. We demonstrated that murine *eIF3f* is an essential

gene for embryonic development. Moreover, heterozygous mice partially deficient in eIF3f (eIF3f^{+/-}) present a diminished body mass mainly associated with a reduction of skeletal muscle mass. We noted a decrease in cell size, whereas the number of cells remained unaffected. Here, we demonstrate for the first time *in vivo* that the partial loss of eIF3f involved an inhibition of MTOR pathway, resulting in a decrease in protein synthesis and muscle size. A direct link between regulation of protein synthesis and muscle mass has been well documented in models of elevated or reduced loading (Kubica *et al.* 2005; Bodine, 2013). Using a model of hindlimb immobilization, we aimed to determine the impact of eIF3f down-regulation on disused muscles. The results of the present study show that immobilized quadriceps muscle of heterozygous mice displayed a reduced mass and cross-sectional area (CSA), as well as diminished protein synthesis, with reduced phosphorylation of S6K1 and S6 proteins compared to control mice. Hence, the present study confirms the key role of eIF3f with respect to regulating protein synthesis and, consequently, muscle mass in mice. This indicates that modulation of eIF3f could constitute a therapeutic target for limiting muscle loss.

Methods

Ethical approval

The mice used in all experiments were sex- and age-matched, kept in individually ventilated cages in pathogen-free conditions, and fed a complete breeding diet (Safe A03; Safe, Augy, France). Animals were maintained under a 12:12 h light/dark cycle and were allowed free access to food and water. In all experiments, mice were killed by cervical dislocation without anaesthesia. All animal experiments were performed in accordance with European directives (86/609/CEE and 2010/63/UE) and were approved by the Ethical Committee of Region Languedoc-Roussillon n°C2EA-36. Our facility is approved by Veterinary Services (animal experimentation license E34-172-10) and the Ministry of Research (APAFIS#1509-20180724133194v2). Our institution guidelines for the care, welfare and use of laboratory animals were observed. The authors understand the ethical principles under which the *Journal of Physiology* operates, and this work complies with its animal ethics checklist (Grundy, 2015).

Generation of eIF3f^{+/-} mice

To produce eIF3f gene KO mice B6-eIF3f^{tm1(KOMP)Vlcr}, we used targeted embryonic stem cells generated by the trans-NIH Knock-Out Mouse Project (KOMP; www.komp.org, RRID:SCR_005571). Targeting construct (VG11510) was obtained by replacing the complete

coding eIF3f sequence (7130bp between positions 116077930–116085059 of chromosome 7) by the Velocigene cassette ZEN-Ub1. We used three independent mutated clones (11510A-F5, 11510B-A4 and 11510B-C10, subsequently referred to as A, B and C) derived from parental embryonic stem (ES) cells VGB6 (isolated from the C57BL/6Tac mouse strain). ES cells were expanded on mouse embryo fibroblast feeder cells with additional LIF in VGB6 medium without insulin and manipulated in accordance with the manufacturer's instructions (KOMP Repository Collection, University of California, https://www.komp.org/pdf/Regeneration_Cell_Culture_Protocol.pdf). Chromosome counting was performed in at least 20 metaphase spreads. B and C clones were >75% euploid, whereas the A clone was only 61% euploid. Despite this, the three ES clones were injected in host blastocysts collected from natural mating of Balb/C-N albino mice (15–20 ES cells in each blastocyst) and transferred into 2,5 dpc pseudo-pregnant B6CBAF1/J females (5–8 blastocysts per uterine horn). Male chimeras with more than 30% of agouti-black coat colour contribution were bred to C57BL6/J females to generate heterozygous black mice. Male chimeras were also bred to Balb/C-N females to generate heterozygous white mice. We obtained up to 100% germline transmission rate according to the coat colour chimerism rate.

All heterozygous mice used in these studies were back-crossed into the C57BL6/J or Balb/C-N inbred backgrounds for at least 10 back-crosses and were maintained on the same background. Experiments were carried out on both genetic backgrounds and the reported results originate from C57BL6/J mice.

Mice genotyping

Mice were genotyped by PCR analysis of mouse genomic DNA, isolated from tail clippings (10–12 days old). Samples were mixed with DirectPCR lysis reagent (Viagen Biotech Inc., Los Angeles, USA, RRID:SCR_017106) and proteinase K overnight at 55°C. Enzyme was then inactivated for 45 min at 85 °C. PCR analysis of tail DNA was performed using the primers: eIF3f forward 5'-CAACCGGGTGATTGGACTCTCAA-3' and eIF3f reverse 5'-GCTGTTGAGCATGGTCTCAA-3' specific for the wild-type (WT) eIF3f allele; SU forward, 5'-GTGTAGATTGCTAGTTGCTTC-3' situated in the intronic DNA region and LacZ reverse, 5'-GTCTGTCTAGCTTCCTCACTG-3' specific for the insertion cassette. Thermal cycling conditions were one cycle at 94°C for 3 min followed by 30 cycles at 94°C for 40 s, 58°C for 40 s and 72°C for 1 min. Amplification with these primers produced a 324 bp band from eIF3f WT gene and a 379 bp band from targeted eIF3f gene (LacZ). Concerning embryogenesis studies, eIF3f^{+/-} mice were mated and monitored daily for plugs. Females with

copulation plugs were considered to be at day 0.5 of gestation. Pregnant females were sacrificed at 8.5, 9.5, 10.5, 11.5 and 12.5 days of gestation, and embryos were dissected free of maternal tissues and genotyped by PCR as described above.

Body composition analysis

Male and female eIF3f^{+/-} mice and WT mice (4–6 months of age) were individually weighed and scanned using a Whole Body Composition Analyzer EchoMRI-700 (Echo Medical System, Houston, Texas, USA; RRID:SCR_017104). This scanning allows for non-invasive assessment of body composition on conscious animals by nuclear magnetic resonance (NMR). Each mouse was transported into a room that housed the NMR and placed without anaesthesia in a Plexiglas tube, which was then inserted into the NMR for body composition analysis. The test takes less than 60 s to perform and allows for measurement of body lean tissue. Total lean content value (g) only represents muscle tissue mass, excluding fat and bone minerals.

Real-Time PCR analysis

Tissues were crushed in liquid nitrogen using mortar and pestle. Total RNA was extracted from powdered tissues using RNeasy Fibrous tissue kit (Qiagen, Venlo, The Netherlands; RRID:SCR_008539) for muscles and RNeasy tissue kit for other tissues (Qiagen; RRID:SCR_008539), in accordance with the manufacturer's instructions. RNA concentration was determined by spectrophotometric analysis, and RNA integrity was checked by the OD₂₆₀/OD₂₈₀ absorption ratio (>1.95) and by visualization of 18S/28S ribosomal RNA on agarose gel. For reverse transcription, 1 µg of total RNA was used as a template using the RevertAid First Strand cDNA synthesis kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; RRID:SCR_008452).

A real-time PCR quantification was then performed using Bio-Rad 2X SYBR green master mix on a Mini-opticon thermocycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA; RRID:SCR_008426). Cycling conditions were one cycle at 98°C for 30 s followed by 40 cycles at 95°C for 1 s and 60°C for 15 s. Melting curves were measured by increments of 0.5°C every 5 s (starting at 65°C, finishing at 95°C). Each sample was run in duplicate and the relative mRNA levels were normalized to *GAPDH* housekeeping gene levels, which were unaffected by the experiment.

Microfluidic quantitative real-time PCR analysis

A high-throughput quantitative real-time PCR was performed using the Biomark microfluidic system in

which every sample-gene combination is quantified using a 96.96 Dynamic ArrayTM IFCs (Fluidigm, San Francisco, CA, USA). Pre-amplification of the samples, chip loading and quantitative real-time PCR were performed in accordance with the manufacturer's instructions. *GAPDH* was used as reference gene. Quantitative real-time PCR results were analysed using the Fluidigm real-time PCR analysis software, version 4.1.2 (RRID:SCR_015686). Primers are listed in Table 1.

Protein content and western blotting

For protein content determination, a known quantity of powdered muscles was homogenized in lysis buffer [1% NP-40, 20 mM MOPS, pH 7.0, 2 mM EGTA, 5 mM EDTA, 30 mM NaF, 60 mM β-glycerophosphate, 20 mM sodium pyrophosphate, 1 mM sodium orthovanadate, 1 mM dithiothreitol, protease inhibitor (Complete Mini; Roche, Basel, Switzerland; RRID:SCR_001326)] supplemented with 0.5% SDS. After 1 h under agitation, samples were centrifuged at 10,000 g for 10 min at 4°C and protein concentrations were determined from the supernatant using the Bradford assay (Bio-Rad; RRID:SCR_008426).

Frozen muscles were powdered under liquid nitrogen, homogenized in lysis buffer without SDS and centrifuged at 10,000 g for 10 min at 4°C. Protein concentrations were determined from the supernatant using the Bradford assay (Bio-Rad; RRID:SCR_008426). Next, 50 µg of proteins were then diluted in 2X-Laemmli sample buffer, resolved by SDS-PAGE, transferred onto nitrocellulose membranes (0.2 µm) and detected by western-blotting using primary antibodies against eIF3f (A303-005A; Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA; dilution 1:2000; RRID:AB_10748371), S6K1 (sc-230; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA; dilution 1:500; RRID:AB_632156) and phospho-S6K1 (9206; Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA; dilution 1:500; RRID:AB_2285392), 4EBP1, S6 and phospho-S6 (S240/244) (9452, RRID:AB_331692; 2317, RRID:AB_2238583; and 5364, RRID:AB_10694233, respectively; Cell Signaling Technology; dilution 1:1000), ubiquitin (sc-8017; Santa Cruz Biotechnology; dilution 1:400; RRID:AB_628423) and puromycin (MABE343; Millipore, Temecula, CA, USA; dilution 1:2000; RRID:AB_2566826). Normalization was performed using the β-actin antibody (sc-81178; Santa Cruz Biotechnology; dilution 1:2000; RRID:AB_2223230), whereas Ponceau S staining was only used for normalization in the immobilization study to take account of β-actin expression variability. Detection was achieved using HRP-linked secondary antibodies (1858415 for rabbit and 1858413 for mouse; Pierce, Rockford, IL, USA; dilution 1:2000; RRID:SCR_008452). Immunoblots were revealed using a Pierce ECL kit

Table 1. List of primers used for high throughput real-time PCR

Gene	Sense primer (5'- to 3')	Reverse primer (5'- to 3')
Beclin	TGAATGAGGATGACAGTGAGCA	CACCTGGTTCTCCACACTCTTG
BNIP3	CCTGTCGCAGTTGGGTTT	GAAGTGCAGTTCTACCCAGGAG
Cathepsin L	AATAAATATTGGCTTGCAAGAACAG	TCCCGGCTTTTGGCTATTTT
eIF3f	CAGAAGATGAAGTGGCTGTTG	GTGAACATCACTCCCATGGTCC
FoxO1	GCTGGGTGTCAGGCTAAGAG	AGGGCATCTTTGGACTGCT
FoxO3a	GGAAATGGGCAAAGCAGA	AAACGGATCACTGTCCACTTG
Gabarap L1	GCGAGAAAATCCGAAAGAAA	AGATCAGAAGGCACCAGGTATT
GAPDH	ATTGTCAGCAATGCATCCTG	CAACCGGGTGATTGGACTCTCAA
Lamp2a	TGCAGAATGGGAGATGAATTT	GGCACTATTCCGGTCATCC
LC3	CCCCACCAAGATCCCAGT	CGCTCATGTTCCAGTGG
MAFbx	AGTGAGGACCGGCTACTGTG	GATCAAACGCTTCCGAATCT
Mul1	AGGGCATTCTTTCAGAAGCA	GGGGTGGAACTTCTCGTACA
MuRF1	TCCTGCAGAGTGACCAAGG	GGCGTAGAGGGTGTCAAAC
MyHC-I	ATAGCAGGAAAGGGGCTGA	GCCTCTCATCAGCATCTC
MyHC-IIa	GTGGTGATCAGCAGCATTTC	GTGGTGATCAGCAGCATTTC
MyHC-IIb	CTGCAGGACTTGGTGGACA	CTTGGCCAGGTTGACATTG
MyHC-IIx	CATGTCAAAGCCAACAGTG	CTGAGCCAGCTTCTTCTGG
Parkin	GCCCGGTGACCATGATAG	GTGTCAGAATCGACCTCCACT
Tubulin	CTGGAACCCACGGTCATC	GTGGCCACGAGCATAGTTATT
ULK1	GCAGGTAGTCAGCCAGGCT	ATCGTGGCGCTGTATGACTT

GAPDH housekeeping gene was used as a reference gene.

(32106; Thermo Fisher Scientific; RRID:SCR_008452) and proteins were visualized by enhanced chemiluminescence and quantified with Image Lab, version 5.2.1 (Bio-Rad; RRID:SCR_014210).

Histology

Mice were killed by cervical dislocation and extensor digitorum longus (EDL), gastrocnemius, quadriceps, soleus and tibialis anterior hindlimb muscles were rapidly dissected out. Fresh dissected muscles were collected, embedded with optimum cutting temperature medium matrix (Sakura Finetek, Torrance, CA, USA) and immediately frozen in isopentane cooled in liquid nitrogen. Serial transverse sections (thickness 12 μm) were cut from the mid-belly of muscles with a cryostat microtome (HM560; MikroM, Berlin, Germany). Sections were then stained with azorubine 1% to allow quantification of fibre number and area from muscles. Muscle sections were scanned using a NanoZoomer (Hamamatsu, Photonics, Hamamatsu City, Japan; RRID:SCR_017105) with a 10 \times objective. Definiens Developer, version 7.1 (Definiens, Munich, Germany; RRID:SCR_014283) was used to analyse and quantify the images for each area (Pessemesse *et al.* 2012). Alternatively, for immunohistological studies on immobilized mice, transverse serial cross sections were incubated with anti-laminin antibody for 1 h at 37°C (L9393; Sigma; dilution 1:200; RRID:AB_477163), followed by washes in PBS and incubation with secondary

antibody (Alexa Fluor[®] 488; Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME, USA; dilution 1:1000; RRID:AB_2340621) for 1 h at 37°C. The fibre sizes were analysed with SMASH software (Smith & Barton, 2014). For these studies, eight eIF3f^{+/+} and eight eIF3f^{+/-} mice were used and we analysed five sections per muscle.

Protein synthesis measurements

In vivo protein synthesis was measured using the surface sensing of translation (SUnSET) method (Schmidt *et al.* 2009; Goodman *et al.* 2012). In light period (morning), mice with *ad libitum* access to complete breeding diet and water were i.p. injected with puromycin (40 nmol g⁻¹ in 200 μL of PBS). At exactly 30 min after i.p. puromycin injection, mice were killed and muscles were snap-frozen in liquid nitrogen. Extracts were analysed by immunoblotting with 30 μg of total protein and anti-puromycin antibody.

Total RNA determination and polysome profiling

For total RNA determination, 10 mg of frozen EDL, tibialis and soleus muscles was homogenized in FastPrep-24 (MP Biomedicals, Carlsbad, CA, USA; RRID:SCR_013308) instrument for 3 \times 20 s at a speed of 5.0 with lysing matrix D in 300 μL of β -mercaptoethanol containing lysis buffer RLT from RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA; RRID:SCR_008539).

Samples were centrifuged at 14,000 g for 5 min and total RNA purified in accordance with the manufacturer's instructions. RNA concentrations were determined using a Nanodrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific; RRID:SCR_016517).

Quadriceps and gastrocnemius muscles from WT and eIF3f^{+/-} mice were collected, flash frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. Frozen muscles were grinded under liquid nitrogen using a mortar and pestle. Next, 1 mg of powder of each muscle was suspended in 1.2 mL of lysis buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.5, 140 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 100 µg mL⁻¹ cycloheximide, 1 mM dithiothreitol, 20 U mL⁻¹ RNasin; 0.5% NP40, 0.5 % sodium desoxycholate). Following 30 min of incubation on ice, extracts were centrifuged at 10,000 g for 5 min at 4°C. Cleared lysates were loaded onto a pre-chilled 10–50% linear sucrose gradient containing 10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 140 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 100 µg mL⁻¹ cycloheximide and 1 mM dithiothreitol and centrifuged at 150,000 g using a SW40 rotor (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) for 2 h at 4°C. The gradient was fractionated, fractions of 600 µL were collected and absorbance at 260 nm was monitored.

Unilateral immobilization

Mice were anaesthetized with isoflurane inhalation and subjected to unilateral hindlimb immobilization from a modification in the strapping method (Aihara *et al.* 2017). Hair on the left lower hindlimb was removed with clippers, the skin swabbed with 70% alcohol, and the hindlimb wrapped with a triple layer of surgical tape (3M Extensa Plus; Hartmann, Heidenheim, Germany), including a wood tutor (length 3 cm, diameter 2.5 mm) with the hip and knee joints, respectively, fixed at ~160° and 180°. To avoid circulatory issues, the distal portion of adhesive bandage was not tightened and allowed ankle mobility. The positions of the ankle and knee were similar to those reported in previously reported studies (Aihara *et al.* 2017; Kazi *et al.* 2011; Madaro *et al.* 2008). The mass of bandage was less than 1 g and did not interfere with mice natural activity. Because the non-immobilized contralateral leg did not undergo hypertrophy, it served as internal control. After 3, 7 or 14 days of immobilization, mice were killed by cervical dislocation and the muscles were excised, weighed and immediately used in experiments or stored at -80°C.

Statistical analysis

All results are presented as the mean ± SEM. The aim of each statistic test was to discriminate a genotype effect between groups using XLStat, version 2014.5 (Addinsoft, Paris, France; RRID:SCR_016299). Experimental conditions were compared with controls

using the Mann–Whitney test. When the data distribution was normally distributed with a sample size greater than 20, Student's two-tailed, unpaired *t* tests were used for two-group comparisons. *P* < 0.05 was considered statistically significant (**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001).

Results

Generation of eIF3f-deficient mice

To understand the physiological importance of eIF3f, we generated mice carrying specific eIF3f invalidation. Heterozygous recombinant ES cells clones in which coding region of eIF3f had been deleted and replaced with the Velocigene cassette ZEN-Ub1 (Fig. 1A) were injected into blastocysts and generate chimeras. Prior to micro-injection, the identity of the targeted embryonic stem cells was verified by PCR using SU primer localized on intronic mouse DNA sequence and LacZ primer specific to the targeting vector sequence (Fig. 1B). Targeted ES cells, chimeric males and the progeny of heterozygous intercrosses were genotyped by PCR analysis, using eIF3f (324 bp) and LacZ (379 bp) primers (Fig. 1C). eIF3f heterozygous (eIF3f^{+/-}) mice were viable, fertile and showed an apparently normal phenotype. Subsequent studies were performed using eIF3f^{+/-} mice, enriched with the C57BL/6J strain background by more than 10 generations of outbreeding into the C57BL/6J strain.

Embryonic lethality of eIF3f^{-/-} mice

To generate eIF3f null mice, we then intercrossed heterozygous mice and analysed their offspring genotype by PCR. In total, 1939 born mice were analysed, of which 1179 (61%) were WT and 760 (39%) were heterozygous for the eIF3f locus. No homozygous mutants were recovered at birth (Fig. 2A). This result indicated that eIF3f^{-/-} embryo failed to develop. To determine the stage of embryonic lethality, embryos were collected and dissected from heterozygous intercrosses at 9.5, 10.5, 11.5 and 12.5 days of gestation. Out of 116 embryos, 89 (76.7%) exhibited normal phenotype, whereas 27 (23.3%) appeared to be limited to the presence of empty decidua, comprising amniotic material without an identifiable embryo, which could account for the resorption of eIF3f embryos (Fig. 2B). It should be noted that empty deciduae are rarely seen in late embryogenesis from normal mice of our livestock. After PCR genotyping, none of the embryos were homozygous for mutation, 30 (25.8%) embryos were eIF3f^{+/+} and 59 (50.2%) were eIF3f^{+/-}, although, as a result of the absence of DNA in decidua (corresponding to 24%), we were unable to genotype necrotic embryos (Fig. 2C). At 8.5 days and at

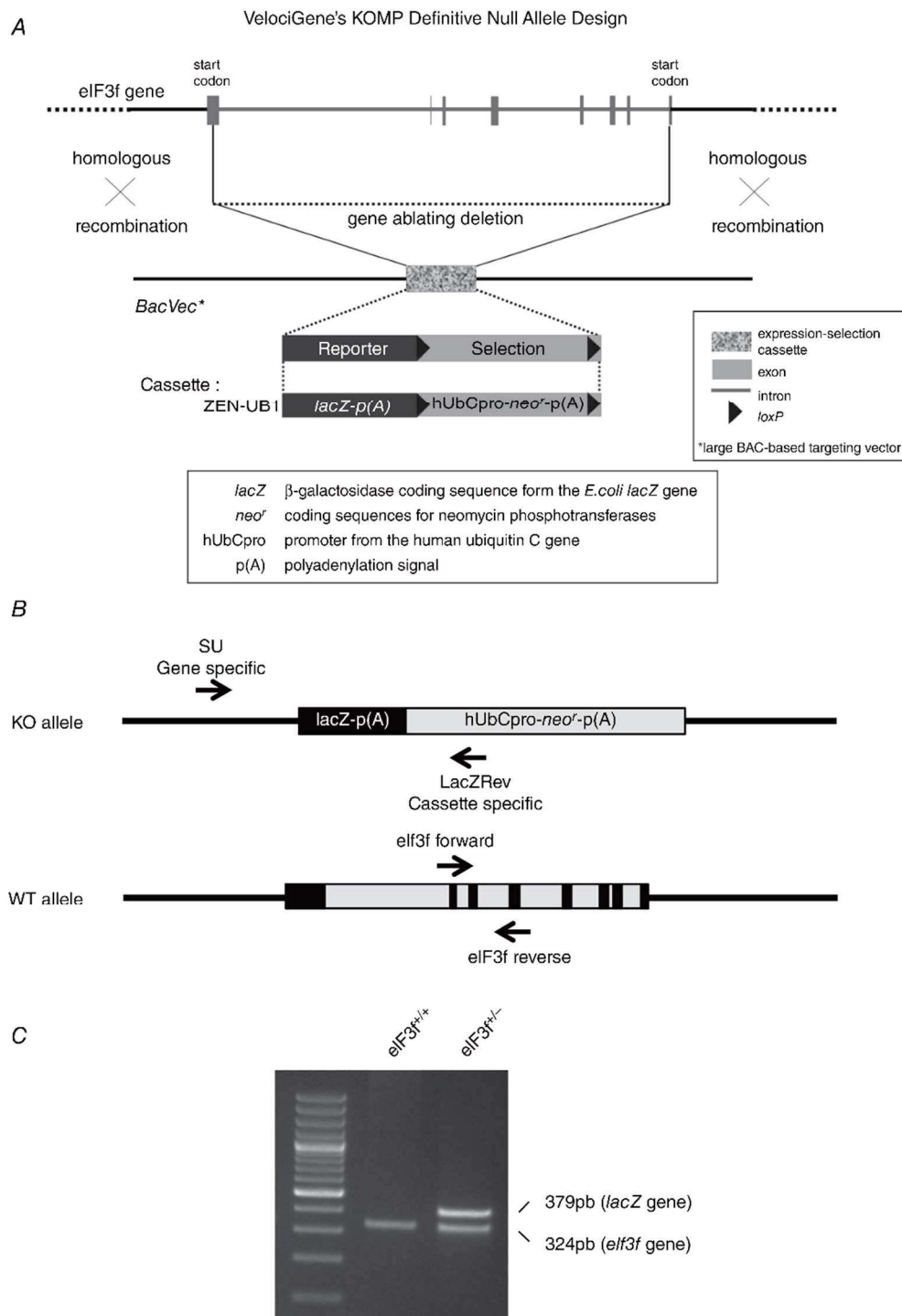


Figure 1. Generation of mice with a targeted, disrupted *eIF3f* allele

A, schematic diagram of the murine WT *eIF3f* allele and the targeting cassette used to generate a null *eIF3f* allele by precise replacement of the entire *eIF3f* coding sequence by the *lacZ* reporter gene, as well as a neo-selectable marker. *B*, PCR-based genotyping. The scheme indicates the DNA regions amplified by SU, LacZRev primers in the KO allele and by *eIF3f* forward, and *eIF3f* reverse primers in the WT allele. Black boxes represent the exons. *C*, genotyping from the intercross of heterozygotes by the PCR method. The KO allele, which contains insertion cassette, generates a PCR fragment larger (379 bp) than that generated by the WT allele (324 bp).

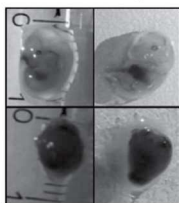
an earlier stage, we could not determine the genotype of embryos because of contamination with maternal tissue. If these empty deciduae are counted as $eIF3f^{-/-}$ embryos, the genotypic distribution is not significantly different from the expected Mendelian ratios. Intriguingly, by considering that homozygous null mice die during development, heterozygous mice for the null allele are not born in the Mendelian ratio expected from intercrosses of heterozygotes ($eIF3f^{+/-}$; 39% instead of 66%) (Fig. 2A, lane 1). To investigate an apparent dominant lethality, we crossed heterozygous with WT mice and the offspring genotypes were determined. We found less heterozygosity than expected (37% instead of 50%) (Fig. 2A, lane 2), indicating an increased lethality of $eIF3f^{+/-}$ embryos. This result could indicate that expression of $eIF3f$ is required for viability of sperm or oocytes. To test this hypothesis, male or female heterozygous mice were crossed with WT mice and the offspring genotypes were determined (Fig. 2A, lanes 3 and 4). In both cases, the ratio of heterozygous mice to WT mice was similar regardless of the sex of heterozygous founders, indicating that heterozygous lethality is not associated with defect in gametes fertility.

The absence of any homozygous mutant strongly indicates that $eIF3f$ loss results in embryonic lethality. The presence of empty decidua shows that $eIF3f^{-/-}$ embryos die at an early stage of development but after the pre-implantation stage. These results are consistent with the essential role of $eIF3f$ for embryonic development.

Heterozygous $eIF3f$ mice exhibit a lower $eIF3f$ expression

To gain insight into the physiological role of $eIF3f$, we first examined mRNA expression pattern of $eIF3f$ in different organs of adult WT mice by quantitative real-time PCR analysis. In non-muscles organs and in heart, the $eIF3f$ gene had a comparable expression level, except for lung in which the $eIF3f$ mRNA level was higher (4–9-fold) (Fig. 3A). In skeletal muscles, $eIF3f$ expression was found to be lower than in non-muscle tissues, except for soleus in which the expression level was similar to that in liver and brain (Fig. 3B). We then compared $eIF3f$ mRNA expression between organs of $eIF3f^{+/+}$ and $eIF3f^{+/-}$ mice. The results revealed a reduction of ~50% (40–59%) in heterozygous non-muscular tissues such as the kidney,

A	Total	+/+	+/-	-/-
$eIF3f^{+/+} \times eIF3f^{+/+}$	1939	1179 (61%)	760 (39%)	0
$eIF3f^{+/-} \times eIF3f^{+/+}$	1641	1032 (63%)	609 (37%)	n.a.
♂ $eIF3f^{+/-} \times eIF3f^{+/+}$	1048	680 (65%)	368 (35%)	n.a.
♀ $eIF3f^{+/-} \times eIF3f^{+/+}$	593	352 (59%)	241 (41%)	n.a.

B	Embryo Phenotype	Percentage (n=116)	E12.5 embryos
	Normal	76.7	
	Necrotic	23.3	

C	Embryo Genotype	Percentage (n=116)
	+/+	25.8
	+/-	50.2
	??	24.0

Figure 2. Homozygous $eIF3f$ mice show embryonic lethality

A, numbers of WT, heterozygous and homozygous null offspring from genotype analysis of progeny from $eIF3f$ heterozygous intercrosses (lane 1), from crosses between heterozygous and WT mice (lane 2) and from crosses between male or female heterozygotes and WT mice (lanes 3 and 4). B, morphological analysis of embryos from $eIF3f$ heterozygote intercrosses at 9.5 to 12.5 days of embryonic gestation. Photographs of normal and necrotic embryos at day 12.5. C, genotypes of embryos from $eIF3f$ heterozygote intercrosses collected between 9.5 and 12.5 days of embryonic gestation.

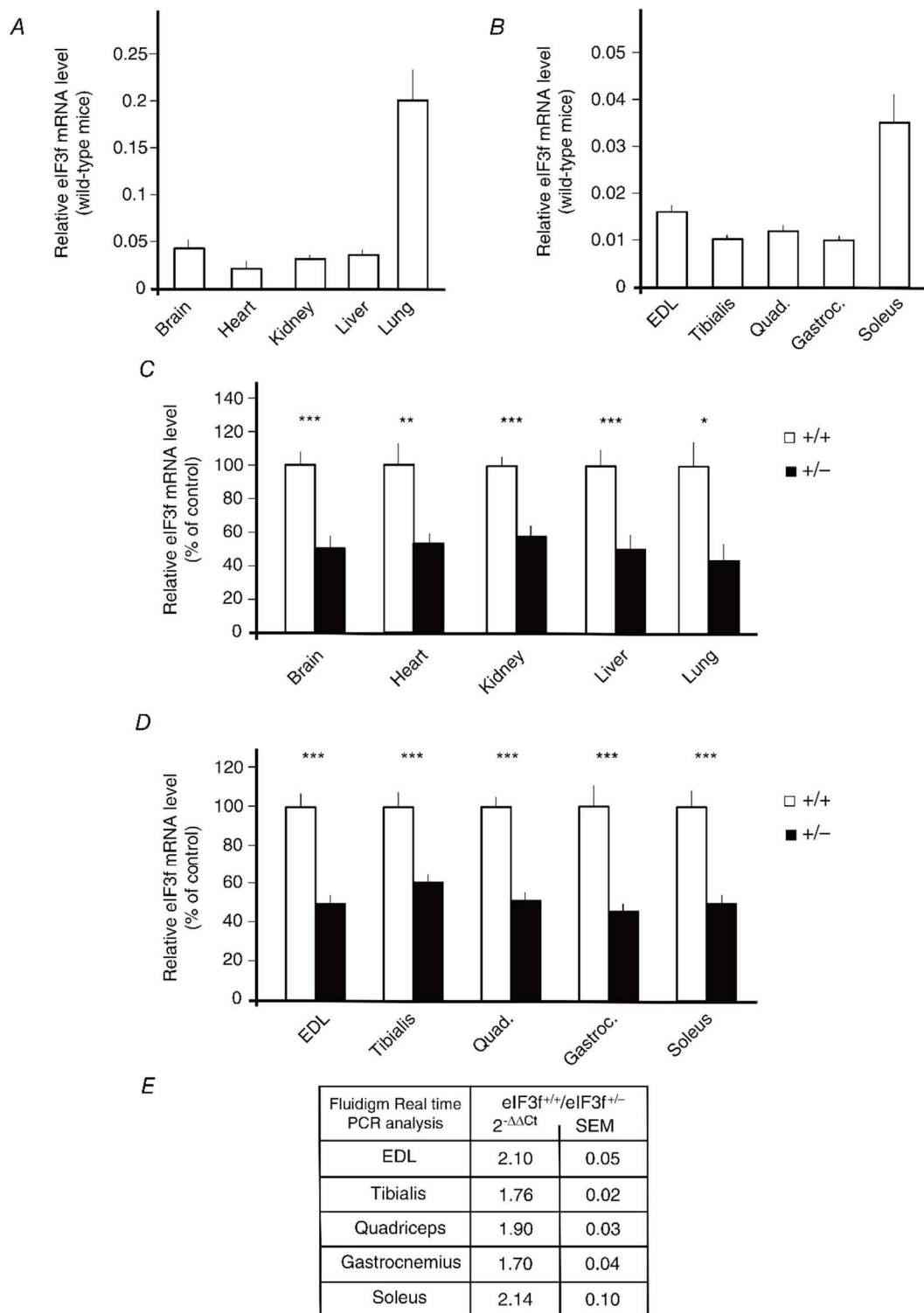


Figure 3. Heterozygous mice have reduced tissue expression of eIF3f messenger RNA

A and B, relative eIF3f mRNA level from WT mice at 2–4 months of age for heart, kidney, lung, liver and brain (A) and EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles (B). Data represent the mean \pm SEM for $n = 10$ of each organ/tissue. C and D, comparison of the levels of eIF3f mRNA in heart, kidney, lung, liver and brain (C) and EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles (D) of WT and heterozygous eIF3f mice from 2–4

months of age. Results were normalized by the *GAPDH* gene. Data represent the mean \pm SEM for $n = 10$ of each organ/tissue. Mann–Whitney test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. *E*, microfluidic analysis of eIF3f mRNA expression in EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles from WT and heterozygous eIF3f^{+/-} mice. Data were analysed using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method representative of the fold change in the WT relative to the eIF3f^{+/-} mice. Six replicates of each reaction were performed.

lung, liver and brain (Fig. 3C), as well as in muscles such as the heart, EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus (Fig. 3D). Microfluidic quantitative real-time PCR analysis carried-out on EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles confirmed eIF3f mRNA expression decrease in heterozygous mice (Fig. 3E). This decrease reflects the loss of one allele of *eIF3f* gene. To

determine whether the mRNA reduction affected eIF3f protein levels, we carried out immunoblotting analysis with eIF3f antibody. Except for kidney, eIF3f was expressed at levels corresponding to a moderately abundant protein (Fig. 4A and B). Unlike RNA expression pattern, we did not find a high protein expression level in lung. In all of the examined organs, eIF3f protein expression

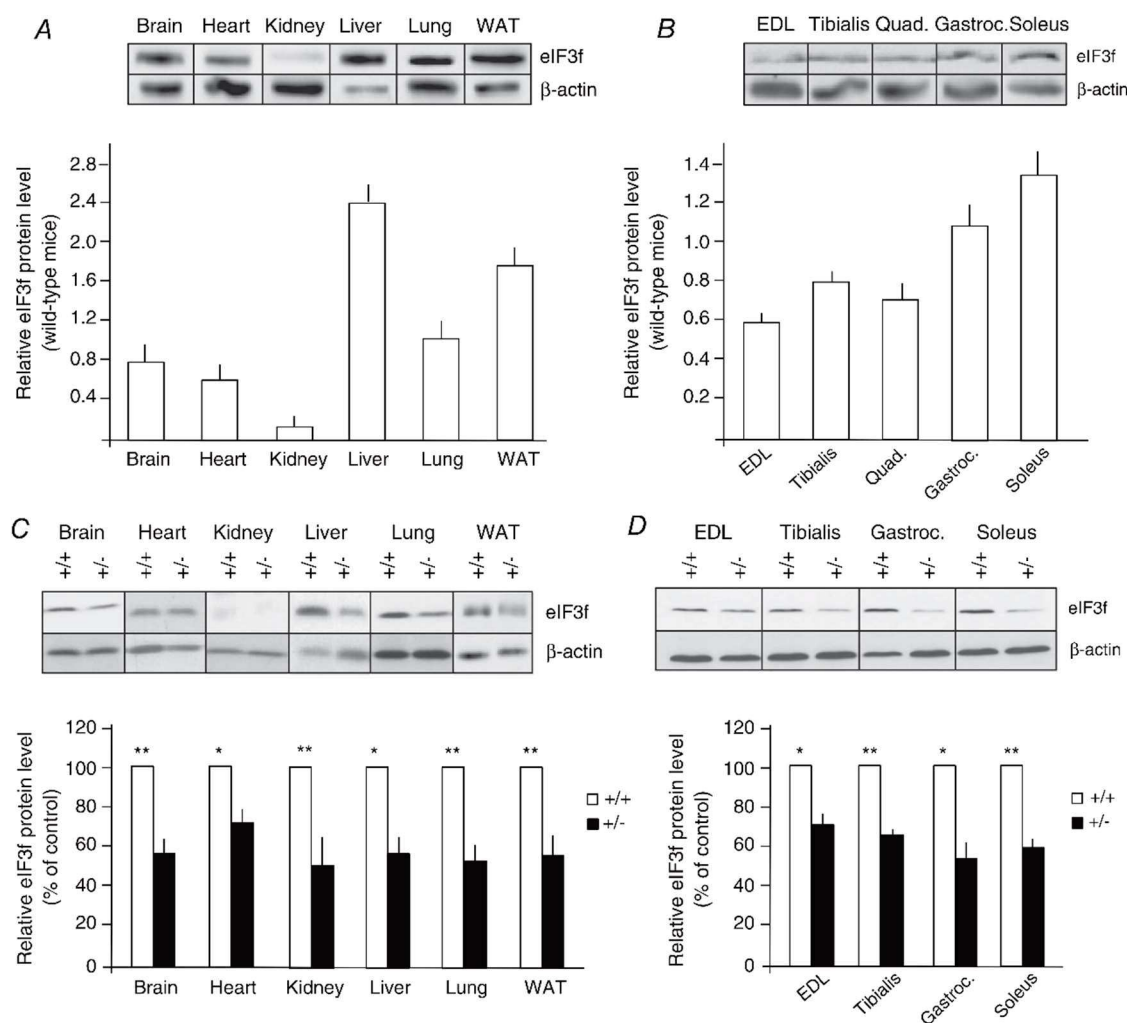


Figure 4. Heterozygous mice have reduced tissue expression of eIF3f protein

A and B, tissue extracts from brain, heart, kidney, liver, lung and white adipose tissue (WAT) (A) and from EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus (B) were isolated from 2–4-month-old WT mice. The samples were resolved by SDS-PAGE and immunoblotted with antibody for eIF3f. C and D, comparison of eIF3f protein expression in brain, heart, kidney, liver and WAT (C) and EDL, tibialis, gastrocnemius and soleus (D) isolated from 2–4-month-old WT and heterozygous mice. β -actin protein was used as a loading control. Data represent the mean \pm SEM for $n = 8$ –10 of each organ/tissue. Mann–Whitney test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

was reduced in the eIF3f^{+/-} mice compared to the WT eIF3f^{+/+} littermate controls (-28% to -50%) (Fig. 4C). In kidney from WT and heterozygous mice, eIF3f protein was not mainly expressed as a 47 kDa protein but, instead, as several proteins of lower molecular weights (not shown). Quantification of immunoblots in skeletal muscles indicated that eIF3f protein expression levels decreased by 30–46% for EDL, tibialis, gastrocnemius, soleus and quadriceps (Figs 4D and 10B, day 0).

Heterozygous eIF3f mice present a reduced muscle mass

Based on the decrease of eIF3f levels, we considered that eIF3f^{+/-} mice might display certain phenotypes compared to WT mice. eIF3f^{+/-} mice were found to be healthy, showed no obvious phenotypic abnormalities, appeared normal in their gross anatomy and behaviour, and were fertile. There was no gender bias, with males and females being present in equal frequency ($n = 1939$). Two to 4-month-old male and female heterozygous eIF3f mutants showed significantly reduced body mass compared to WT. Difference reached between 10% and 11% in males and females, respectively (Fig. 5A), and the measurement of bones length (shin and thighbone) revealed no change in size between eIF3f^{+/+} and eIF3f^{+/-} mice (Fig. 5B). Body composition analysis assessed by NMR showed lean mass reduction in heterozygous mice, regardless of gender (Fig. 5C). This difference reached 8% in eIF3f^{+/-} males and 7% in eIF3f^{+/-} females. Next, we focused on mass of other tissues/organs such as the brain, heart, kidney, liver, lung, white adipose tissue and muscles in male and female animals. Although the average mass of organs such as the liver, lung, white adipose tissue was not, or slightly (brain, heart, kidney) affected, EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus muscle mass was reduced by 14–18% in heterozygous compared to WT mice. Males and females of each genotype showed similar mass patterns for all tissues, except for the kidney, where only heterozygous males displayed a reduced mass (Fig. 5D).

Monitoring of food intake and spontaneous activity by voluntary wheel running did not reveal any significant difference between heterozygous and WT littermates (Docquier A, Pavlin L, Bernardi H; unpublished data). In summary, the body mass loss observed in eIF3f^{+/-} mice is mainly explained by a decrease in muscular mass.

To better understand this decrease, we next examined CSA and fibre number of EDL (fast-twitch) (Fig. 6A), tibialis (Fig. 6B), gastrocnemius (Fig. 6C), soleus (slow-twitch) (Fig. 6D) from eIF3f^{+/-} and control animals. To visualize muscle fibres, azorubine staining was used. CSA and fibre number were quantified with Definiens Developer, version 7.1, after a NanoZoomer scan. For the four muscles that were investigated, the

mean CSA was significantly lower in eIF3f^{+/-} mice than in control animals (tibialis, -21%, $P < 0.01$; gastrocnemius, -24%, $P < 0.01$; soleus, -26%, $P < 0.001$; EDL, -17%, $P < 0.001$), without any statistical change in the total fibre number, meaning that eIF3f^{+/-} skeletal muscles present an reduction of muscle fibres size. To determine whether the eIF3f depletion was associated with a fibre type switch, we measured the expression of the four adult myosin heavy chains (MyHC) by microfluidic analysis (Fig. 6E). Regardless of whether for EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius or soleus, the expression levels of different MyHC remain unchanged between eIF3f^{+/+} and eIF3f^{+/-} mice. Taken together, these results suggest that the under-expression of eIF3f protein induces a reduction of fibres size in skeletal muscles.

Heterozygous eIF3f mice have a reduced rate of protein synthesis

Because the maintenance of skeletal muscle mass depends on changes in protein synthesis, we evaluated the rate of protein synthesis in our animal models with the SUnSET (Surface sensing of translation) technique. SUnSET is a non-radioactive technique for measuring changes in protein synthesis. This technique uses puromycin antibiotic and anti-puromycin antibodies to quantify puromycin incorporation into nascent peptide chains (Schmidt *et al.* 2009). We found that eIF3f depletion caused a decrease in protein synthesis in all muscles examined (Figs 7A and 9D). EDL muscle from heterozygous mice exhibited a 54% decrease of puromycin incorporation; 45% for tibialis muscle; 50% and 54%, respectively, for gastrocnemius and soleus muscles (Fig. 7A); and 35% for quadriceps (Fig. 9D). Because the SUnSET method allows measurement of the protein synthesis rate that is only associated with translationally active RNA messengers during the time of puromycin injection (30 min), variations of such translated protein do not necessarily impact global protein content. Consequently, we measured the protein content of muscles and found a decrease of between 25% and 30% (Fig. 7C). These findings suggest that eIF3f regulates *de novo* protein synthesis in skeletal muscle. We then used polysome profiling to determine which step of translation was modified by eIF3f depletion. Sucrose density gradient analysis of quadriceps and gastrocnemius muscles showed that heterozygous mice had slightly less ribosomal subunits accumulation (i.e. subpolysomes, fractions 6–11) and less actively translating ribosomes (i.e. polysomes, fractions 12–18) compared to control mice (Fig. 7B). The total gradient area was significantly less important in heterozygous mice vs. control mice (-22% for quadriceps and -23% for gastrocnemius) (Fig. 7B). We also determined that areas under

12

A. Docquier and others

J Physiol 0.0

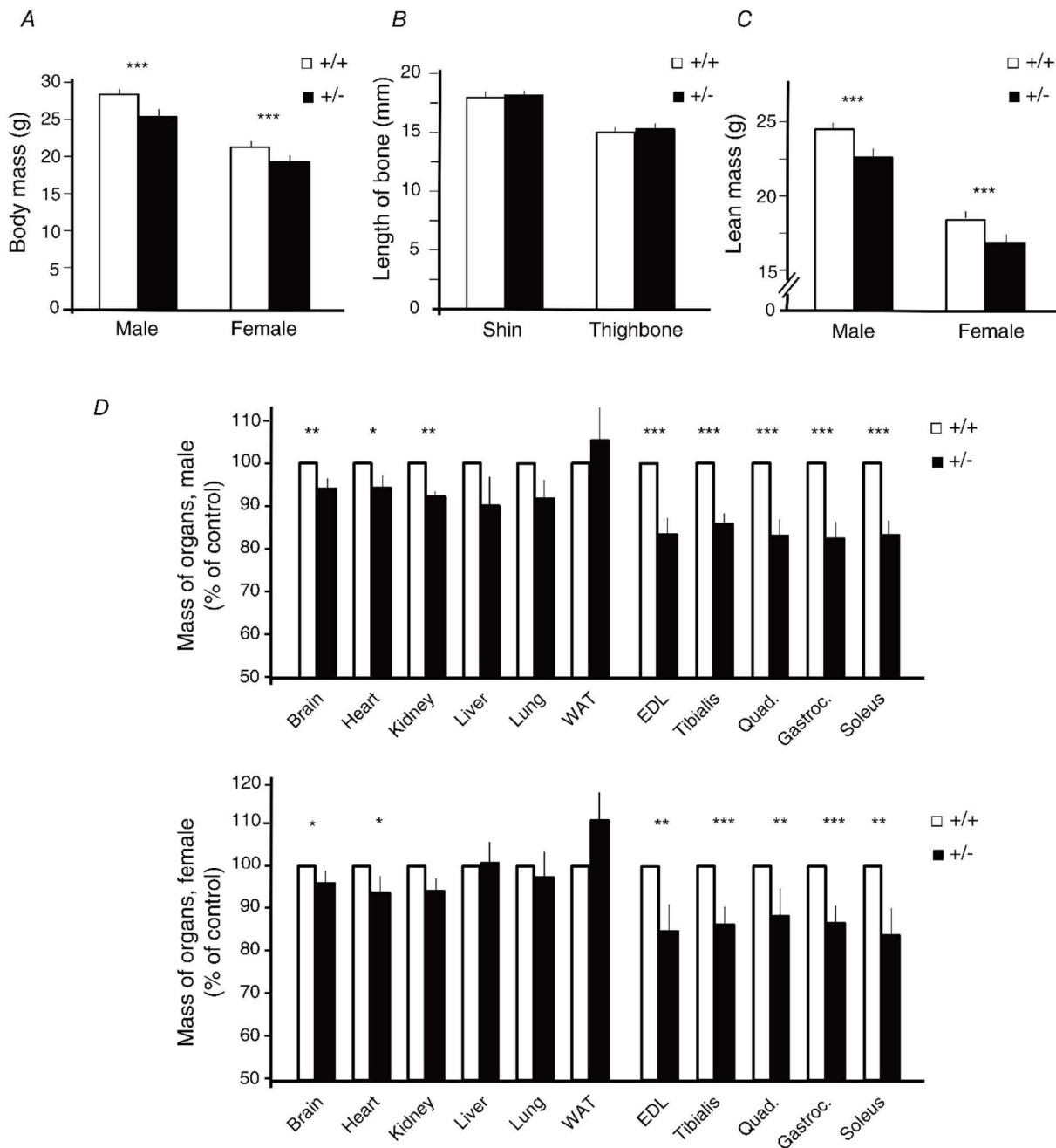


Figure 5. eIF3f insufficiency results in decreased body and skeletal muscle masses

A, body mass of male and female WT and heterozygous mice recorded 2–4 months after birth. For each group, $n = 20$ –25 mice. B, length of shin and thighbone from 2-month-old WT and heterozygous mice. For each group, $n = 10$. C, lean body mass as assessed by EchoMRI of male and female WT and heterozygous mice at the age of 4–6 months. For each group, $n = 16$ –32. D, organs and tissues relative mean mass from heterozygous mice at the age of 2–4 months (WAT is white adipose tissue). Results are plotted as the percentage in mass of male and female eIF3f^{+/-} mice compared to WT mice of the same gender. For each group, $n = 15$ –20. Student's *t* test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

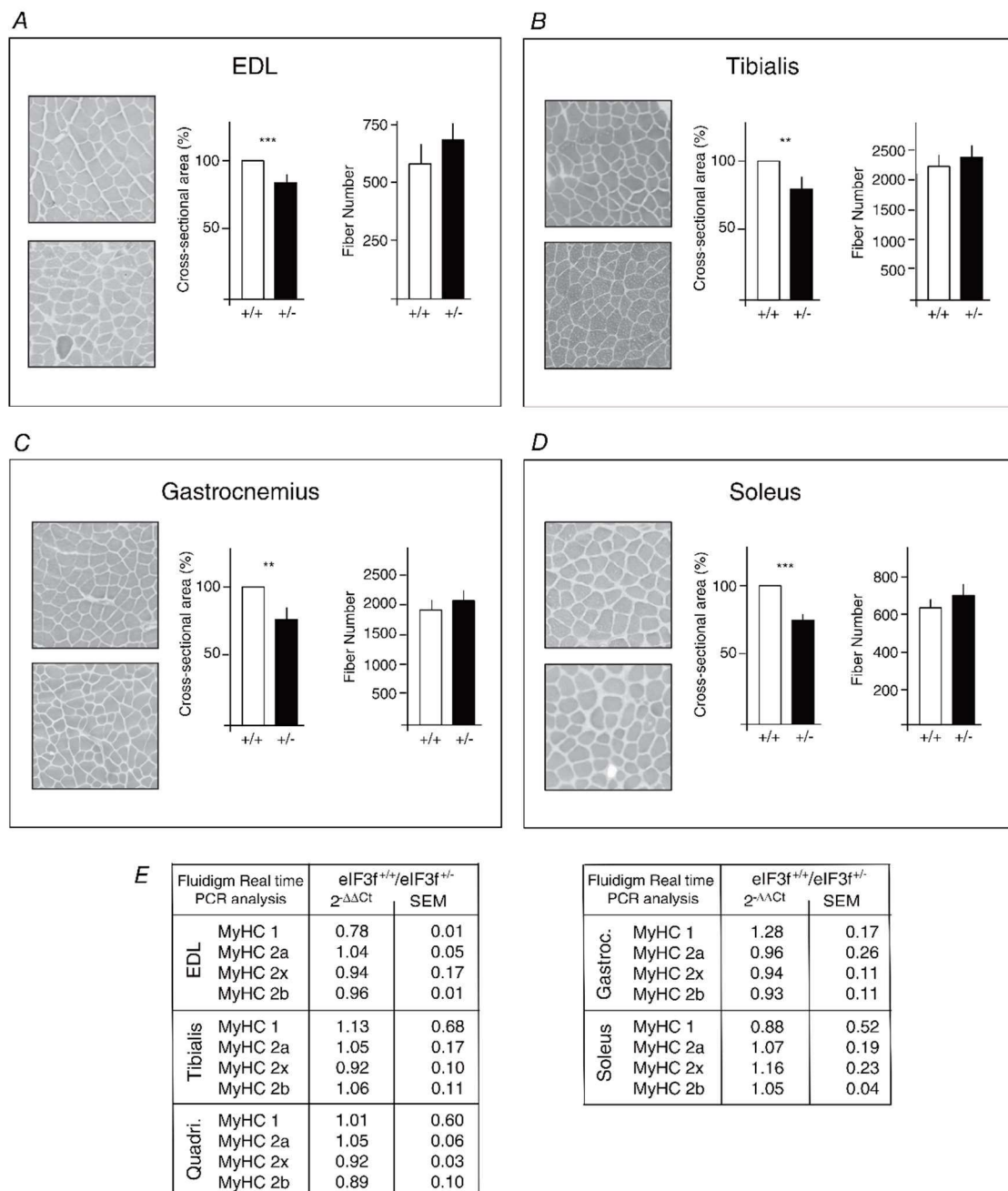


Figure 6. Heterozygous mice show reduced muscle cell size

eIF3f level modulates cross-sectional areas in EDL (A), tibialis (B), gastrocnemius (C) and soleus (D) muscle. Azorubine staining of muscle sections was used to quantify the number and areas of muscle fibres. Muscle sections were scanned using a NanoZoomer (Hamamatsu Photonics) with a 20× objective. Definiens Developer, version 7.1, was used to analyse the images for each entire area and for quantification. For each muscle, relative CSA from eIF3f^{+/-} mice were expressed as a percentage of the corresponding control value. Fibre number was count using the same software on entire areas. For these experiments, mice were 4 months of age ($n = 6$ per group). Data represent the mean \pm SEM. Mann–Whitney test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. E, microfluidic analysis of MyHC 1, 2a, 2x and 2b mRNA expression in EDL, tibialis, quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles from WT and heterozygous mice. Relative mRNA expression levels were normalized to GAPDH expression. Data were analysed using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method representative of the fold change in the WT relative to the eIF3f^{+/-} mice. Six replicates of each reaction were performed.

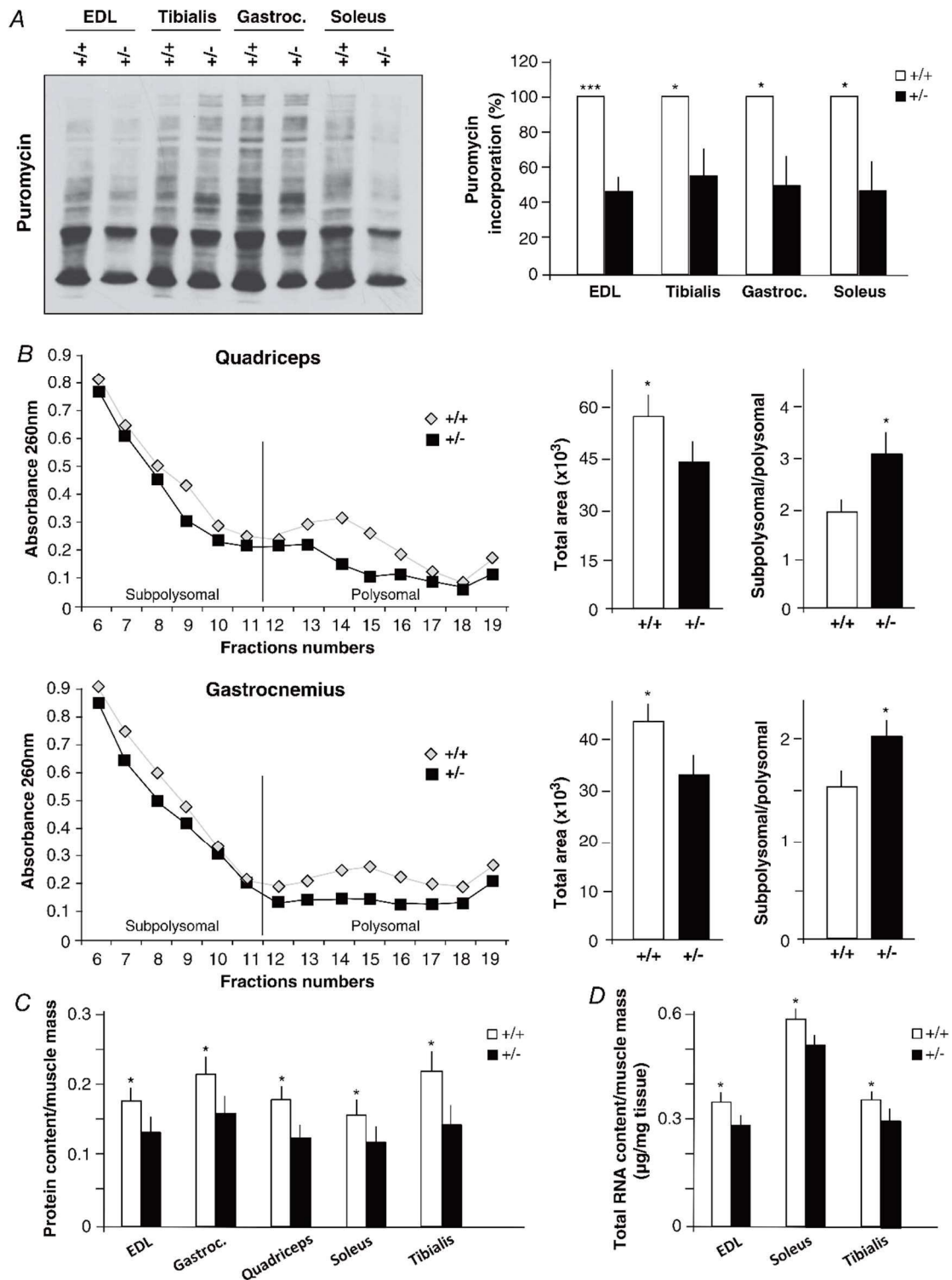


Figure 7. eIF3f depletion decreases protein synthesis

A, representative immunoblot of the incorporation of puromycin into nascent polypeptides in EDL, tibialis, gastrocnemius and soleus muscles using the SUnSET technique from WT and eIF3f^{+/-} mice at 4 months of age ($n = 10$). Total intensity of puromycin-labelled polypeptides was quantified and values obtained in heterozygous mice

subpolysomal and polysomal portions of the tracings were significantly less in heterozygous mice (subpolysomal -17%, polysomal -41% for quadriceps; subpolysomal -13%, polysomal -33% for gastrocnemius). When this parameter was expressed as a ratio of subpolysomal to polysomal, heterozygous mice had higher ratio than control mice (3.08 vs. 1.95 for quadriceps; 2.05 vs. 1.52 for gastrocnemius) (Fig. 7B). These results indicate that eIF3f depletion in quadriceps and gastrocnemius muscles alters both ribosomal number and initiation of translation. Total RNA content in EDL, soleus and tibialis muscles is also reduced (-19%, -13%, -12%, respectively) (Fig. 7D), indicating that muscles from heterozygous eIF3f^{+/-} mice show a decrease in protein synthesis efficiency.

The MTOR pathway is implicated in the protein synthesis reduction of heterozygous mice

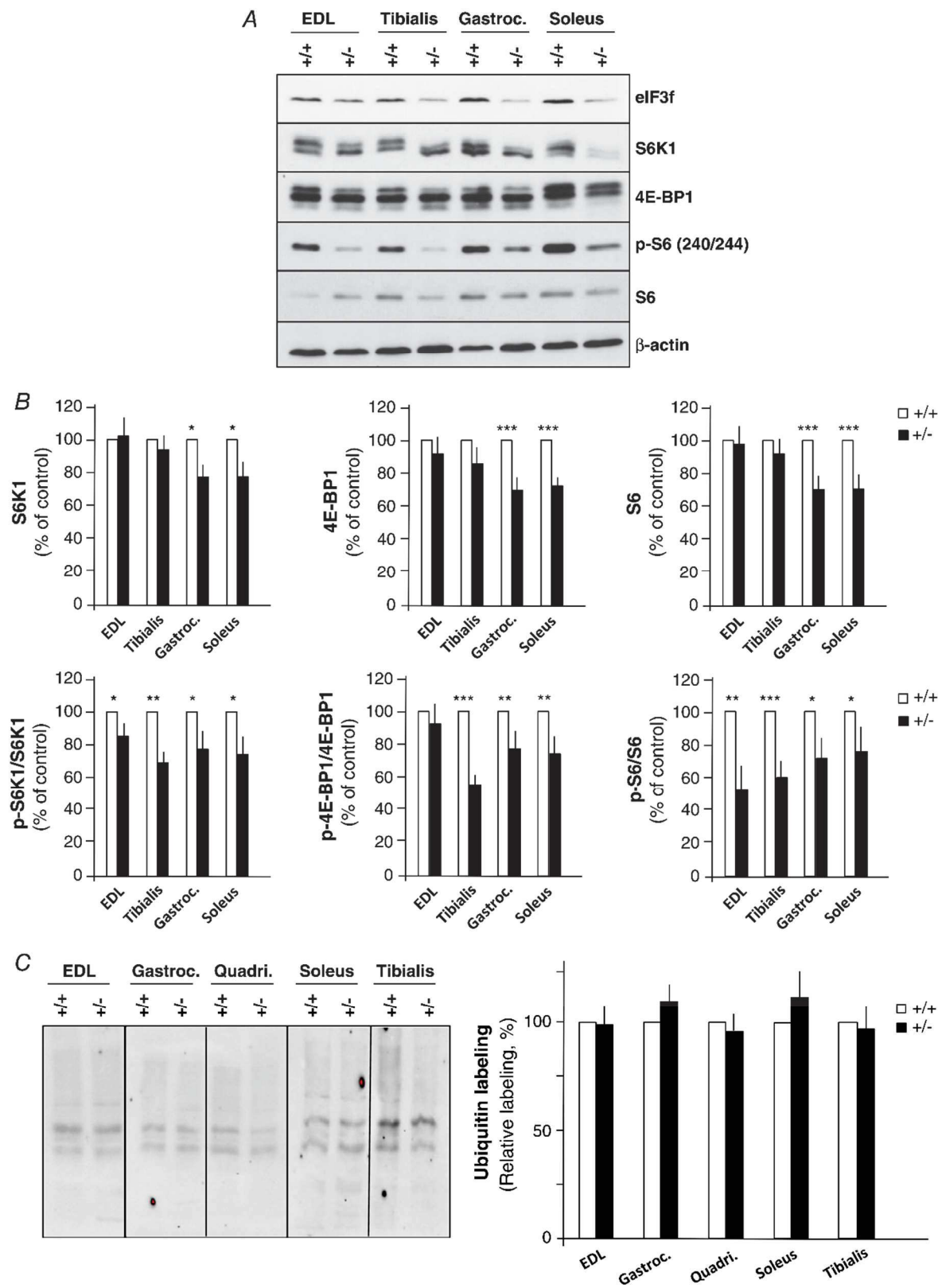
Recent data (Csibi *et al.* 2010) established that MTOR and its downstream targets control the size of myotubes by interacting with eIF3f. In skeletal muscle, MTOR is an essential element regulating skeletal myocyte differentiation and hypertrophy. This kinase acts by modulating the activity of 4E-BP1 and S6K1. The latter has been shown to be essential for the control of muscle cytoplasmic volume (Ohanna *et al.* 2005). The ribosomal protein S6, a substrate of S6K1, is involved in cell size control. We hypothesized that eIF3f depletion in heterozygous mice causes fibre size reduction by modulating mTORC1 activity. To clarify the role of eIF3f and to decipher the mechanism associated with reduced muscular mass observed in eIF3f^{+/-} mice, we quantified the levels of main components of MTOR pathway known to play a prominent role in muscle hypertrophy. Phosphorylation of downstream targets of MTOR was determined using anti-phospho S6 and by taking advantage of the fact that phosphorylated forms of S6K1 and 4E-BP1 differed in their mobility (Fig. 8A). As shown in Fig. 8B, S6K1, 4E-BP1 and S6 protein expression was down-regulated in gastrocnemius and soleus muscles of heterozygous mice. Except for 4E-BP1 in EDL, phosphorylation of S6K1, 4E-BP1 and S6 protein in the four muscles was reduced in heterozygous mice compared to WT controls. In quadriceps, western blot quantification showed that phosphorylation of S6K1 and S6 was also significantly reduced in heterozygous mice (p-S6K1/S6K1: -37%; p-S6/S6: -50%) (Fig. 10A, day 0).

Noteworthy, in fast-twitch EDL and tibialis muscles, S6K1, 4E-BP1 and S6 protein expression was not down-regulated (Fig. 8B). These data confirm that the diminution of eIF3f expression in heterozygous mice is associated with an inhibition of the MTOR pathway, as well as a decrease of protein synthesis and muscle fibre size reduction.

Heterozygous eIF3f mice display an exacerbated immobilization-induced decrease in muscle mass

The results obtained in the present study indicate that the reduction of eIF3f expression in heterozygous mice is associated with an impairment in muscle protein synthesis. We addressed the hypothesis that reduction of eIF3f would exaggerate the change in both muscle mass and protein synthesis during a period of disuse induced by hindlimb immobilization. In the model of unilateral hindlimb immobilization by strapping used in the present study (Fig. 9A), shortened quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles showed a mass reduction, whereas, as a result of the mobility of the ankle, gastrocnemius and soleus muscles were less impacted than the quadriceps. Because disuse atrophy largely depends of muscle length during inactivity, EDL and tibialis muscles immobilized in stretched positions in this model were much less impacted (Goldspink, 1977). We found that the partial loss of eIF3f in heterozygous mice amplified the immobilization-induced decrease in quadriceps muscle mass (3% at day 3, 6% at day 7 and day 14) (Fig. 9B). Mean CSA was also significantly lower in eIF3f^{+/-} mice compared to control animals (-6% to -8% at days 3, 7 and 14) (Fig. 9C). Several studies have shown that activation of MTOR signalling is necessary to increase protein synthesis in response to muscle loading. On the other hand, immobilization associated-mechanical unloading can induce a reduction in MTOR signalling leading to an impairment of protein synthesis and muscle mass. Acquisition of global rate of protein synthesis by the SUnSET technique confirmed a reduction of protein synthesis during immobilization, which was amplified for heterozygous mice (day 3, -12%; day 7, -27% and day 14, -16%) (Fig. 9D). We observed, that during unloading, MTOR signalling (as revealed by the phosphorylated to total ratio of S6K1 and S6, which is a downstream substrate of S6K1) was increased after 3 and 7 days of immobilization in both WT and heterozygous mice. Ratios returned to their basal values 14 days after immobilization. Compared

expressed as a percentage of the corresponding control value. B, absorbance profile of WT and eIF3f^{+/-} mice fractions from quadriceps and gastrocnemius sedimented through a 20–50% linear sucrose gradient. Fraction 11 for quadriceps and gastrocnemius were defined as the limit between subpolysomal fractions (left) and polysomal fractions (right). Areas under the graphs were determined using IMAGEJ (NIH, Bethesda, MD, USA). C, protein content of EDL, gastrocnemius, quadriceps, soleus, tibialis muscles from WT and heterozygous mice ($n = 6$). D, total RNA content of EDL, soleus, tibialis muscles from WT and heterozygous mice ($n = 5$). Data represent the mean \pm SEM. Mann-Whitney test, * $P < 0.05$.



to WT, heterozygous mice showed reduced activation levels of S6K1 at 3 (–35%), 7 (–33%) and 14 (–28%) days of immobilization, as well as of S6 at 3 (–42%) and 7 (–28%) days of immobilization (Fig. 10A). Similarly, during immobilization, eIF3f expression increased in WT and heterozygous mice at 3, 7 and 14 days, although at a lower range for eIF3f^{+/-} mice (–25% at 3 and 7 days, –20% at 14 days) (Fig. 10B).

Discussion

We have previously shown in myotubes that the genetic repression of eIF3f induces atrophy, whereas its genetic activation is sufficient to induce hypertrophy (Lagirand-Cantaloube *et al.* 2008; Wen *et al.* 2012; Sanchez *et al.* 2013). To directly assess the role of eIF3f *in vivo*, we generated eIF3f null mice by homologous recombination. The results obtained indicate that eIF3f is an essential gene for mice embryonic development and homeostasis. Whole animal KO of eIF3f resulted in embryonic lethality. Because we were able to identify important necrotic embryo from embryonic day E8.5, we could exclude the loss of homozygous embryos before the blastocyst stage (E3.5). The embryonic death might occur at a stage as early as gastrulation (E4–E7). Although embryo lethality is the consequence of the absence of the eIF3f gene product, this could either be the result of a direct role of eIF3f on ontogenesis or the reduction of its functional activity. To date, no direct ontogenic function for eIF3f subunit has been attributed, suggesting that the mortality in our eIF3f^{-/-} individuals is probably mediated by the defect of eIF3f-related specific pathways. Deficient mice in the eIF3b and eIF3m genes also display a lethal phenotype (Koyanagi-Katsuta *et al.* 2002; Zeng *et al.* 2013). The absence of eIF3b mainly results in embryo lethality before the blastocyst stage, demonstrating that this factor is essential for the very early stages of mouse development (Koyanagi-Katsuta *et al.* 2002). eIF3b with eIF3a, and c, constitute the conserved functional core of mammalian eIF3 (Masutani *et al.* 2007). eIF3b plays a scaffolding role in the recruitment and assembly of other non-core subunits into the eIF3 complex and is involved in mRNA binding (Pérard *et al.* 2009; Liu *et al.* 2014). Given eIF3f essential role in the protein synthesis process, we can speculate that its absence seriously jeopardizes the early steps of embryo development. As for eIF3f^{-/-}, eIF3m null

embryos are lethal and no eIF3m^{-/-} embryo was observed at E9.5, suggesting that eIF3m is an essential gene for early embryonic development (Zeng *et al.* 2013). eIF3m subunit interacts with eIF3f and eIF3h to form a stable tertiary complex, which in turn binds and stabilizes the subunit eIF3c, critical for the integrity and function of eIF3 complex (Zeng *et al.* 2013). We can advance that, by preventing eIF3m–eIF3f dimer formation, loss of eIF3f in homozygous mice might destabilize the eIF3 complex and thus result in inefficient protein translation and impaired development (Niemann *et al.* 2004; Choudhuri *et al.* 2010, 2013; Lee *et al.* 2015). It is of note that RNA and protein expression levels of eIF3m and h are not modified in eIF3f^{+/-} mice (Docquier A; unpublished data, Bernardi (IIB)). Moreover, it has been shown in zebrafish that the eIF3h subunit targets specific transcripts to polysomes during embryogenesis (Choudhuri *et al.* 2013). The absence of ternary complex formed by eIF3m, eIF3h and eIF3f in an eIF3f deficient context could alter this targeting function and thus block development. Using an elegant approach, Moretti *et al.* (2010) have shown that eIF3f exhibits deubiquitinase activity positively regulating the Notch pathway. With Notch being essential for post-implantation development (Swiatek *et al.* 1994), its defect in an eIF3f null context could result in impaired development.

The heterozygous eIF3f^{+/-} mice with one normal allele are viable and show no apparent abnormalities in development or fertility, indicating that one functional copy of the gene is sufficient for normal development. The fact that the ratio of heterozygous eIF3f^{+/-} to WT mice was similar, whatever the sex of heterozygous founder, suggests that sperm and oocytes with the disrupted eIF3f gene have normal fertility. Thus, the lower number of heterozygous animal recorded when crossing eIF3f^{+/-} with WT mice is not associated with the production of functionally abnormal spermatozoa and oocytes but, instead, linked to an increased lethality of heterozygous mice during development. The cause of the weakness of heterozygous embryos and of the embryonic death of the homozygous animals remains to be determined, although we cannot exclude the possibility that, during embryogenesis, eIF3f plays another function independent of the protein synthesis regulation. To further define the role of eIF3f in the early embryo, it will be necessary to examine the behaviour of blastocysts explants isolated from eIF3f^{+/-} crosses in culture.

Figure 8. eIF3f regulates the canonical protein synthesis pathway

A, total lysates from EDL, tibialis, gastrocnemius and soleus of heterozygous and WT mice (2–4 months of age) were analysed by immunoblotting using the indicated antibodies. β -actin was used as a loading control. B, quantization of immunoblots using IMAGEJ (NIH). The phosphorylated proteins were reported in the context of total protein levels. For each group, $n = 8–12$. C, immunoblots against ubiquitin from EDL, gastrocnemius, quadriceps, soleus and tibialis muscles of WT and heterozygous mice ($n = 6$). Data represent the mean \pm SEM. Mann–Whitney test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

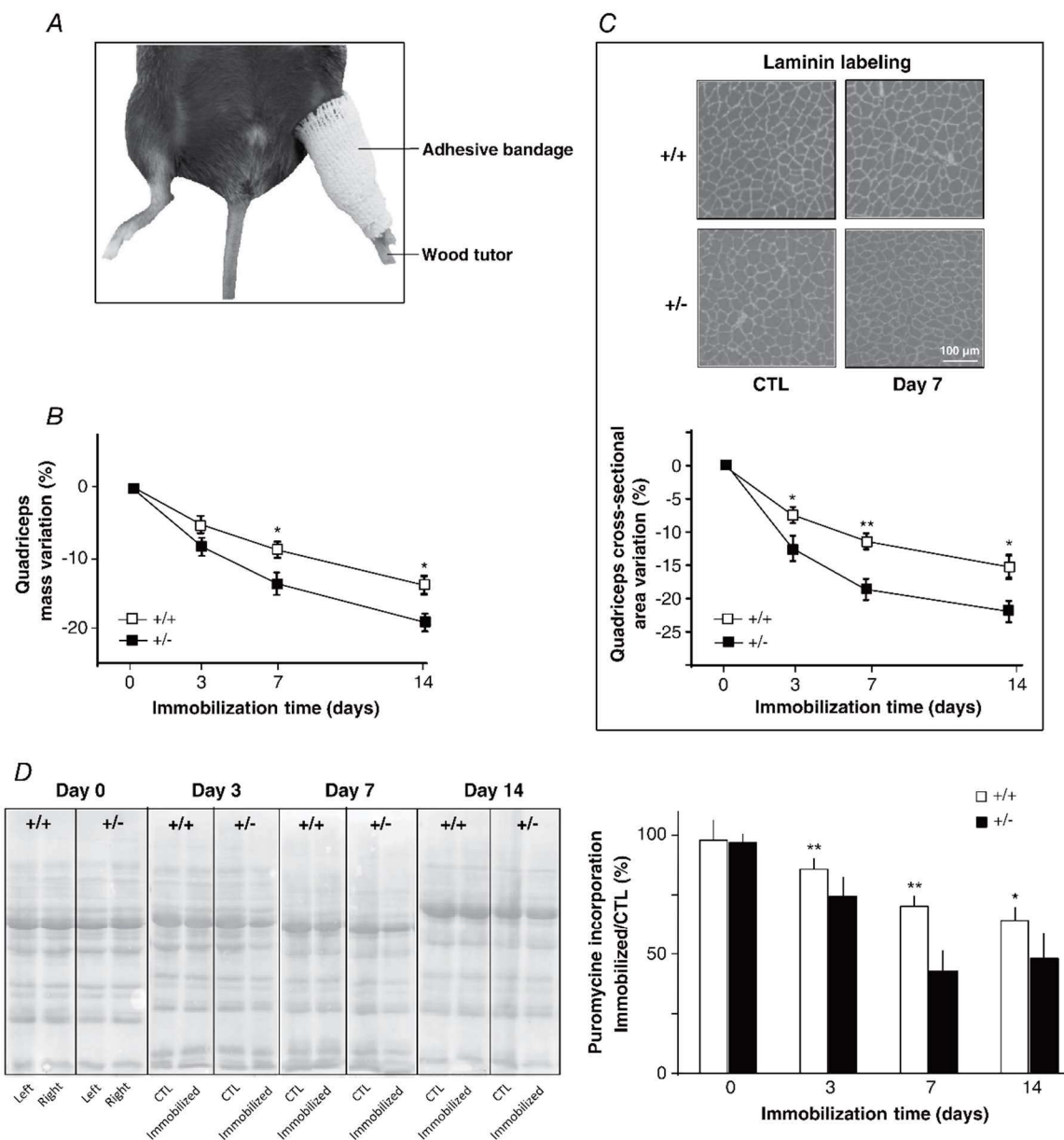
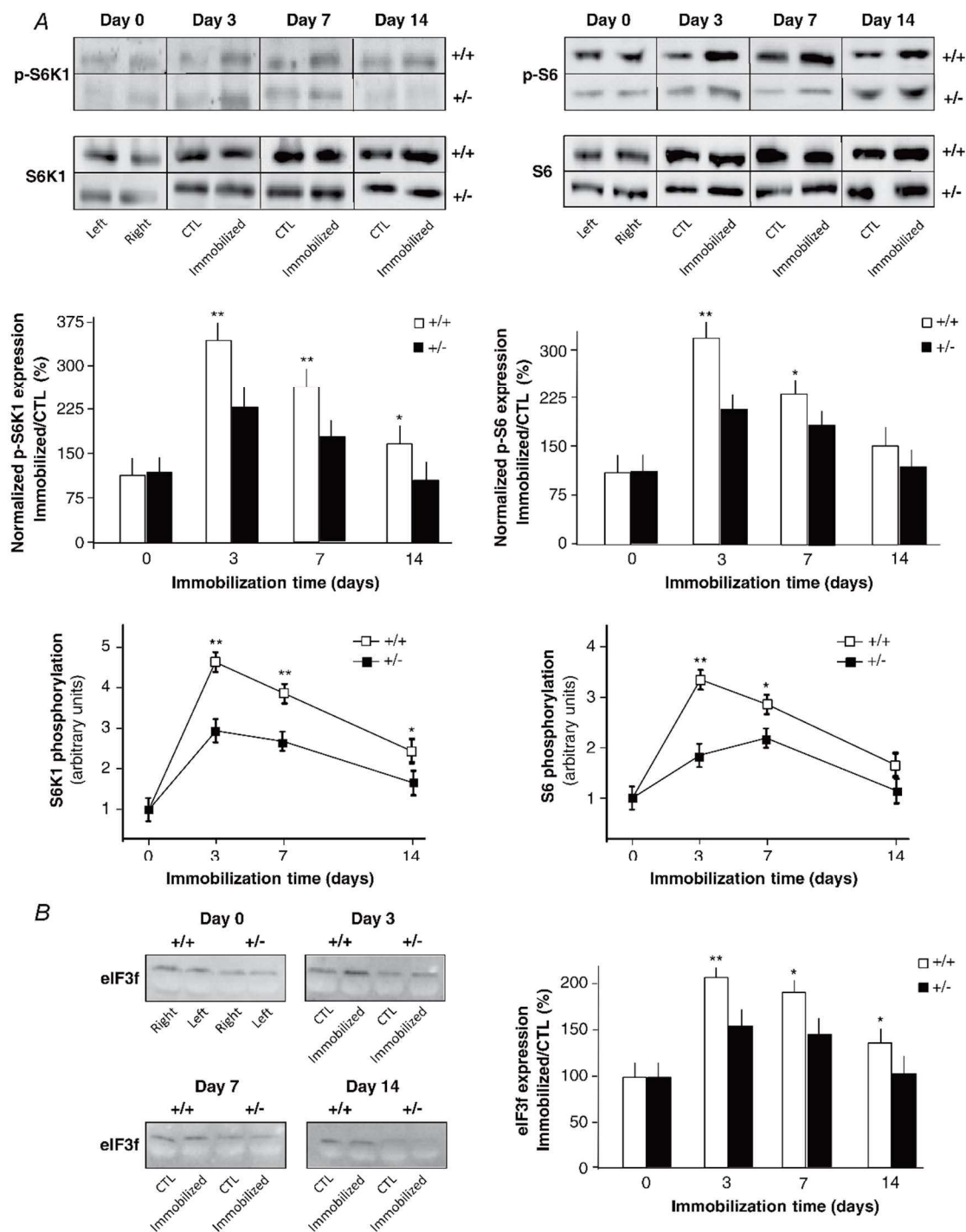


Figure 9. Reducing eIF3f exaggerates muscle mass loss and reduces protein synthesis during hindlimb immobilization

A, representative image of a mouse subjected to unilateral strapping immobilization. B, quadriceps muscle mass variation during immobilization for 3, 7 and 14 days from WT and eIF3f^{+/-} mice at 4 months of age ($n = 15$). Value of each measure was normalized to contralateral muscle. C, immunohistochemistry for laminin after 7 days of immobilization and CSA variation of immobilized quadriceps muscles from WT and eIF3f^{+/-} mice at 4 months of age for 3, 7 and 14 days ($n = 6$ per group). The value of each measure was normalized to contralateral muscle. D, western blot analysis for puromycin-labelled peptides during immobilization for 3, 7 and 14 days from WT and eIF3f^{+/-} mice at 4 months of age ($n = 10$). CTL represents the non-immobilized contralateral muscle. Data represent the mean \pm SEM. Mann-Whitney test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



Expression analysis of eIF3f showed that the levels of mRNAs and proteins in a variety of organs and tissues were reduced in heterozygous mice to one-half of that of the WT. This result indicates that there is no compensatory mechanism facing the inactivation of one *eIF3f* allele. Using loss of heterozygosity and gene copy number analysis, it has been demonstrated that some cancer cells with a decreased eIF3f expression display an allele loss of the *eIF3f* gene (Shi *et al.* 2006; Bhattacharyya *et al.* 2008; Doldan *et al.* 2008). This linear relationship between mRNA content and protein expression could be a result of eIF3f, in that eIF3a, e and h are highly translationally controlled TOP mRNAs (Meyuhas & Kahan, 2014). Indeed, skeletal muscles, heart, liver and brain from our animals are in non-regenerating, non-proliferating, differentiated states and therefore, under these quiescent conditions, TOP RNA is usually poorly translated (Thoreen *et al.* 2012; Meyuhas & Kahan, 2014). In this regard, the induction of protein synthesis following cardiotoxin injection in tibialis, muscle loading or a diet/refeed episode stimulates eIF3f expression in muscle (Docquier A, Pavlin L, Bernardi H; unpublished data). However, lung and kidney display a peculiar expression profile; indeed, lung exhibits the highest mRNA expression, whereas the protein is not over-expressed, and kidney expresses mRNA but 47 kDa protein is undetectable, suggesting a tissue-specific protein translation regulation.

Between 2 and 6 months of age, heterozygous mice, independent of gender and genetic background (C57BL6/J or Balb/C-N), weighed less than their WT littermates and had a reduced lean body mass. With animal size being unaffected, a reduction of body mass in eIF3f^{+/-} mice could result from smaller size of specific organs. Biometric measurements of organs at autopsy reveal that the mass of skeletal muscles normalized to the body mass is reduced in eIF3f^{+/-} mice, whereas the mass of other organs is not or hardly affected, suggesting that, for some tissues, eIF3f haploinsufficiency may become rate limiting. Despite the eIF3f down-regulation in all of the tissues analysed, it is surprising that the mass of heart and non-skeletal muscular tissues is either slightly (brain) or not affected (liver, white adipose tissue). The cell type-specific activity of this ambivalent factor can be suggested. A gain in this factor causes apoptosis in proliferating cells and hypertrophy in differentiated muscle cells, whereas a loss causes malignancy in several cells and atrophy in differentiated muscle cells (Marchione *et al.* 2013, 2015; Sanchez *et al.* 2013). As reported previously for other eIF3 subunits, different interacting cofactors would explain a such discrepancy in eIF3f activity (Moretti *et al.* 2010; Walter *et al.* 2012; Wen *et al.* 2012; Gutiérrez-Fernández *et al.* 2015).

Concerning muscle tissue, eIF3f is expressed in the heart and its mass is slightly affected by eIF3f down-regulation

regardless of gender. Numerous studies show that MTOR signalling, and particularly the mTORC1 complex, plays an important role in embryonic cardiac development and the maintenance of cardiac homeostasis during adulthood. Moreover, MTOR deletion is associated with cardiac dilatation and increased early mortality as a result of cardiac dysfunction in mice (Sciarretta *et al.* 2014). Because the higher mortality of heterozygous eIF3f mice remains to be explained, further studies investigating cardiac morphology and function of our animal model are needed to clarify the involvement of eIF3f in cardiac homeostasis.

In the present study, we report that eIF3f down-regulation significantly decreases skeletal muscle mass by reducing CSA without affecting fibre number and the expression of fibre type-specific myosins. Similar to heterozygous eIF3f mice, KO mice models for S6K1 show a decreased body mass, mainly explained by a lean mass reduction, with a significant reduction of the CSA of fibres, whereas fibre number and type remain unchanged (Ohanna *et al.* 2005). Even if different pathways appear to control fibre growth, MTOR, and particularly S6K1, are mostly responsible for cell size in mammalian skeletal muscle. In the present study, we show that mass and CSA of slow, fast and mixed muscles are affected by eIF3f deficiency, whereas fibre type-specific myosin expression is not, suggesting that eIF3f does not regulate the expression of myosins. Because the protein synthesis rates differ according to fibre type in rodents (Goodman *et al.* 2011a), further investigations are needed to analyse the fibre typology and size distribution of different muscle types (fast and slow-twitch) and determine whether eIF3f partial loss is associated with a preferential size reduction according to fibre type in eIF3f^{+/-} mice.

Skeletal muscle fibres are multinucleated structures and thus muscle mass may also be affected by cell or nuclear turnover. Because no changes in the total number of muscle fibres and in Pax7 expression (Bernardi H; unpublished data) were detected, we can rule out a major impact of eIF3f reduction on cell proliferation. Furthermore, the significant decrease in CSA without fibre number change occurring in eIF3f^{+/-} mice clearly suggests that the reduced skeletal muscle mass results essentially from a decrease in muscle fibre size.

Previous studies have demonstrated that eIF3f regulates protein synthesis in C2C12 or satellite cells. In the present study, we address the question of the impact of eIF3f modulation on protein synthesis in animals. We show that the number of ribosomes, global protein synthesis rates and the MTOR signalling are reduced in all studied muscles and, moreover, polysomal association is decreased in gastrocnemius and quadriceps muscles. Recent data indicate that mTORC1 may account for 30–50% of the basal protein synthesis rate (Ogasawara *et al.* 2016; Jacobs *et al.* 2019; Ogasawara & Sugino, 2018; Goodman,

Table 2. Microfluidic analysis of Beclin, Bnip3, Cathepsin L, Foxo1, Foxo3a, Gabarap L1, Lamp2a, LC3, MAFbx, MURF1, Parkin and Ulk1 mRNA expression in EDL, gastrocnemius, quadriceps, soleus and tibialis muscles from WT and heterozygous mice

Fluidigm real-time PCR analysis	EDL eIF3f ^{+/+} /eIF3f ^{+/-}		Gastrocnemius eIF3f ^{+/+} /eIF3f ^{+/-}		Quadriceps eIF3f ^{+/+} /eIF3f ^{+/-}		Soleus eIF3f ^{+/+} /eIF3f ^{+/-}		Tibialis eIF3f ^{+/+} /eIF3f ^{+/-}	
	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM
Beclin1	0.99	0.07	0.73	0.17	0.91	0.08	1.06	0.11	1.29	1.02
BNIP3	1.03	0.08	0.83	0.08	0.92	0.05	0.99	0.26	1.03	0.98
Cathepsin L	0.98	0.05	0.85	0.02	0.95	0.13	0.97	0.03	1.16	1.01
FoxO1	0.98	0.04	1.05	0.07	0.86	0.05	0.95	0.05	1.25	1.03
FoxO3a	1.88	0.50	0.70	0.19	1.00	0.10	0.99	0.04	1.36	1.02
Gabarap L1	0.95	0.01	0.98	0.05	0.87	0.18	1.04	0.26	1.07	1.02
Lamp2a	0.93	0.02	0.95	0.07	0.94	0.06	1.09	0.30	1.11	0.99
LC3	0.98	0.06	0.91	0.12	0.93	0.24	0.98	0.03	1.17	1.00
MAFbx	1.10	0.14	1.51	0.92	0.87	0.12	1.01	0.04	1.25	1.06
Mul1	0.91	0.01	0.94	0.12	0.90	0.04	0.98	0.14	1.03	0.94
MURF1	1.04	0.05	0.76	0.01	0.92	0.03	1.02	0.01	1.30	1.05
Parkin	0.98	0.01	0.72	0.32	0.97	0.06	1.18	0.23	1.24	1.04
ULK1	0.93	0.03	0.86	0.06	0.95	0.03	0.87	0.19	1.55	1.08

GAPDH housekeeping gene was used as a control. Data were analysed using the 2^{-ΔΔCt} method representative of fold change in the WT relative to the eIF3f^{+/-} mice. Six replicates of each reaction were performed.

2019). Similar results are observed in eIF3f^{+/-} mice and support an association of mTORC1 and eIF3f in the regulation of protein synthesis (Csibi *et al.* 2008). Because heterozygous mice are not completely depleted in eIF3f, basal protein synthesis could be associated with the remaining expression of eIF3f. To fully address this point, the development of an inducible muscle-specific eIF3f KO mouse model will be necessary. However, the proportion of basal protein synthesis not affected by rapamycin treatment reported in several studies implies a supplementary regulation by mTORC1 independent mechanisms (Goodman, 2019). It is interesting to note that eIF3f expression correlates with the protein synthesis rate, which differs between muscle types. Fast-twitch muscles with reduced basal protein synthesis rates, such as EDL and tibialis, express less eIF3f compared to slow-twitch muscles such as soleus, which presents a higher protein turnover (Goodman *et al.* 2012). The results obtained in the present study confirm that eIF3f acts as a scaffold protein that interconnects MTOR with S6K1. Its down-regulation in eIF3f^{+/-} mice leads to a decrease in S6K1 activation and phosphorylation of S6, resulting in an impaired protein synthesis and finally muscle mass reduction. The fact that the diminution of eIF3f expression is associated with an inhibition of both S6K1 and 4E-BP1 signalling suggests that eIF3f could also act as a binding bridge between MTOR and 4E-BP1, thereby facilitating the phosphorylation of 4E-BP1. The proximity of S6K1 and 4E-BP1 binding sites on MTOR could allow the interaction of the latter with eIF3f/MTOR complex (Marabita *et al.* 2016). The results obtained in the present study indicate that protein synthesis rate is reduced

by ~50% and protein content by ~30%, whereas muscle mass is only decreased by 15%. With skeletal muscle being composed of ~20% proteins, an alteration of protein synthesis cannot be fully representative of muscle mass. Protein synthesis rate is representative of translationally active RNA messengers during the time of puromycin injection (30 min) and variations of such translated proteins do not necessarily impact global protein content, explaining the differences observed between protein synthesis and protein content. In relation to the MTOR signalling, a difference between muscle protein synthesis and muscle mass could reflect that the regulation of protein synthesis associated with mTORC1 complex contributes in a moderate way to the maintenance of muscle mass (Goodman, 2019). Using a muscle-specific raptor KO mouse, Bentzinger *et al.* (2008) found a 4–19% reduction in muscle mass similar to the muscle mass reduction observed in eIF3f^{+/-} mice, supporting a moderate but effective contribution of MTOR/eIF3f interaction in basal skeletal muscle mass of heterozygous mice.

With muscle mass homeostasis resulting from a delicate balance between protein synthesis and degradation, a difference between protein synthesis rate and muscle mass can also result from altered protein breakdown pathways. Gene expression analysis by fluidic quantitative real-time PCR analysis using specific primers for ubiquitin-proteasome and autophagic pathways indicated no significant change in RNA expression in eIF3f^{+/-} mice (Table 2). With the ubiquitin proteasome system being the major regulatory mechanism of skeletal muscle atrophy, there is no difference in the ubiquitination levels of muscles in heterozygous mice compared to WT mice (Fig. 8C).

During mechanical unloading, there are alterations in protein turnover, with a reduced rate of protein synthesis being a distinctive feature of muscle atrophy in rodents and humans (Goodman *et al.* 2011*b*; Bodine, 2013; Wall & van Loon, 2013). Several studies have shown that some types of immobilization can induce decreases in MTOR signalling and protein synthesis (Hornberger *et al.* 2001; You *et al.* 2010; Kelleher *et al.* 2014). In the present study, we report that unilateral hindlimb immobilization by strapping decreases muscle mass and rate of protein synthesis, at the same time as increasing MTOR activity. These findings are in agreement with the results reported by You *et al.* (2015), using a microfuge tube for immobilization, and consistent with the fact that activation of MTOR helps to alleviate the atrophic effect of muscle unloading. Similarly, immobilization studies conducted in humans reveal a decrease in muscle mass and in the rates of protein synthesis without any change in MTOR signalling (de Boer *et al.* 2007; Glover *et al.* 2008; Marimuthu, 2011).

From the results obtained in the present study, it appears that, in response to immobilization, eIF3f heterozygous mice have a greater decrease in protein synthesis associated with a reduction in MTORC1 activation, resulting in muscle atrophy. It is interesting to note that Lang *et al.* (2012) found no acceleration of atrophy in the gastrocnemius muscle following immobilization of MTOR^{+/-} mice. This discrepancy can be attributable to the different signalling pathways affected in MTOR and eIF3f heterozygous mice (Moretti *et al.* 2010; Marchione *et al.* 2013; Shimobayashi & Hall, 2014; Martin *et al.* 2017; Saxton & Sabatini, 2017; Hodson & Philp, 2019). Furthermore, given that the expression level and the activity of eIF3f were not determined in MTOR^{+/-} mice, a compensatory response of eIF3f cannot be excluded.

It should be noted that the immobilization technique was different between protocols and could explain the differential response observed. By contrast to Lang *et al.* (2012), the technique used in the present study enabled ankle mobility to avoid circulatory issues linked to strap casting. Thus, the muscles implicated in this mobility, such as soleus and gastrocnemius, could conserve a slight degree of mobility that limits the atrophic response. A difference in the acceleration of atrophy can be also related to muscle type. The study by Lang *et al.* (2012) used gastrocnemius, a postural muscle that is stimulated continuously by acceleration as a result of gravity when awake. This muscle displays a fibre type composition that is different from that of the quadriceps. Measurements of muscle mass and CSA during immobilization of several muscles of the leg show that quadriceps muscle from eIF3f^{+/-} mice exhibits the most prominent acceleration of muscle mass loss compared to gastrocnemius (+6% at day 14 vs. +3%, respectively) and there is no significant acceleration increase in slow-twitch soleus muscle (Pavlin L, Bernardi H; unpublished data). This suggests that the acceleration

of atrophy mediated by eIF3f depletion may depend of fibre type. Noteworthy, the inverse link between eIF3f expression level in quadriceps, gastrocnemius and soleus muscles (Fig. 4*B*) and the accelerated atrophic response to immobilization confirms the anti-atrophic properties of eIF3f.

Skeletal muscle mass is maintained by a delicate balance between protein synthesis and protein degradation, and several studies have reported that muscle atrophy, in a variety of pathophysiological settings, implicates an acceleration of the rate of protein degradation (Krawiec *et al.* 2005; Bodine, 2013). Because eIF3f is a substrate of MAFbx, it has been suggested that this E3 ligase could control protein synthesis via its regulation of eIF3f. However, muscles from MAFbx^{-/-} mice are not larger than normal and expression of eIF3f is not increased in MAFbx null mice (Bodine, 2013). Additionally, heterozygous eIF3f mice in normal condition display no change in proteasome/autophagy activation (Fig. 8*C* and Table 2). These results suggest that eIF3f is not involved in the regulation of proteasome under physiological conditions. During mechanical unloading, the primary degradation pathway activated is the ubiquitin proteasome pathway (Taillandier *et al.* 1996). The rapid rise in the expression of MAFbx can be associated with the degradation of eIF3f, further reducing S6K1 phosphorylation in heterozygous mice and contributing to the decreased muscle mass. Despite the potential role of protein degradation, our results clearly demonstrate that eIF3f via MTOR positively regulates protein synthesis signalling and muscle mass in both normal and immobilized mice, and further studies are required to provide a better understanding of the potential interactions between eIF3f and catabolic pathways during disuse.

eIF3f^{+/-} mice are developmental mouse models and the phenotype observed could be linked to the impact of reduced eIF3f levels during development and not an action on adult fully developed muscle. Of note, 2-month-old young mice show impaired muscle mass and protein synthesis and inhibition of the MTORC1 signalling pathway, not excluding an embryonic and/or postnatal role of eIF3f. The use of heterozygous eIF3f mice in a growth model such as a synergistic ablation or immobilization–recovery episode should better define the impact of eIF3f during muscle regrowth.

In summary, generation, crossing and phenotypic analysis of heterozygous eIF3f^{+/-} mice establishes the physiological importance of eIF3f for embryonic development and skeletal muscle homeostasis. This factor is essential for normal development and its absence leads to embryonic lethality at a post-implantatory stage. Heterozygous mice are viable and fertile, although their musculature is reduced and more prone to atrophy during unloading. These muscular defects are associated with

decreases in protein synthesis and MTOR signalling, confirming the essential role of eIF3f for the regulation of protein synthesis. Future functional and metabolic studies using this animal model will widen the scope of our understanding of the mechanisms involved in the regulation of muscular mass.

References

- Aihara M, Hirose N & Katsuta W (2017). A new model of skeletal muscle atrophy induced by immobilization using a hook-and-loop fastener in mice. *J Phys Ther Sci Orig* **29**, 1779–1783.
- Bentzinger CF, Romanino K, Cloëtta D, Lin S, Mascarenhas JB, Oliveri F, Xia J, Casanova E, Costa CF, Brink M, Zorzato F, Hall MN & Rüegg MA (2008). Skeletal muscle-specific ablation of raptor, but not of rictor, causes metabolic changes and results in muscle dystrophy. *Cell Metab* **8**, 411–424.
- Bergström J, Fürst P, Norée L & Vinnars E (1974). Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. *J Appl Physiol* **36**, 693–697.
- Bhattacharyya A, Doldan A, Chandramouli A, Cunningham JT, Nelson MA & Shi J (2008). Loss of the eukaryotic initiation factor 3f in pancreatic cancer. *Mol Carcinog* **47**, 235–244.
- Bodine SC (2006). mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc* **38**, 1950–1957.
- Bodine SC (2013). Disuse-induced muscle wasting. *Int J Biochem Cell Biol* **45**, 2200–2208.
- de Boer MD, Selby A, Atherton P, Smith K, Seynnes OR, Maganaris CN, Maffulli N, Movin T, Narici M V. & Rennie MJ (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.
- Choudhuri A, Evans T & Maitra U (2010). Non-core subunit eIF3h of translation initiation factor eIF3 regulates zebrafish embryonic development. *Dev Dyn* **239**, 1632–1644.
- Choudhuri A, Maitra U & Evans T (2013). Translation initiation factor eIF3h targets specific transcripts to polysomes during embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci* **110**, 9818–9823.
- Csibi A, Cornille K, Leibovitch MP, Poupon A, Tintignac LA, Sanchez AMJ & Leibovitch SA (2010). The translation regulatory subunit eIF3f controls the kinase-dependent mTOR signaling required for muscle differentiation and hypertrophy in mouse. *PLoS ONE* **5**, e8994.
- Csibi A, Leibovitch MP, Cornille K, Tintignac LA & Leibovitch SA (2009). MAFbx/atrogen-1 controls the activity of the initiation factor eIF3-fin skeletal muscle atrophy by targeting multiple C-terminal lysines. *J Biol Chem* **284**, 4413–4421.
- Csibi A, Tintignac LA, Leibovitch MP & Leibovitch SA (2008). eIF3f function in skeletal muscle. *Cell Cycle* **7**, 1698–1701.
- Doldan A, Chandramouli A, Shanas R, Bhattacharyya A, Leong SPL, Nelson MA & Shi J (2008). Loss of the eukaryotic initiation factor 3f in melanoma. *Mol Carcinog* **47**, 806–813.
- Glover EI, Phillips SM, Oates BR, Tang JE, Tarnopolsky MA, Selby A, Smith K & Rennie MJ (2008). Immobilization induces anabolic resistance in human myofibrillar protein synthesis with low and high dose amino acid infusion. *J Physiol* **586**, 6049–6061.
- Goldspink DF (1977). The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J Physiol* **264**, 267–282.
- Gomes-Duarte A, Lacerda R, Menezes J & Romão L (2018). eIF3: a factor for human health and disease. *RNA Biol* **15**, 26–34.
- Goodman CA (2019). The role of mTORC1 in mechanically-induced increases in translation and skeletal muscle mass. *J Appl Physiol*; doi: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01011.2018>.
- Goodman CA, Kotecki JA, Jacobs BL & Hornberger TA (2012). Muscle fiber type-dependent differences in the regulation of protein synthesis. *PLoS ONE* **7**, e37890.
- Goodman CA, Mabrey DM, Frey JW, Miu MH, Schmidt EK, Pierre P & Hornberger TA (2011a). Novel insights into the regulation of skeletal muscle protein synthesis as revealed by a new nonradioactive in vivo technique. *FASEB J* **25**, 1028–1039.
- Goodman CA, Mayhew DL & Hornberger TA (2011b). Recent progress toward understanding the molecular mechanisms that regulate skeletal muscle mass. *Cell Signal* **23**, 1896–1906.
- Grundy D (2015). Principles and standards for reporting animal experiments in The Journal of Physiology and Experimental Physiology. *Exp Physiol* **100**, 755–758.
- Gutiérrez-Fernández MJ, Higareda-mendoza AE, Gómez-correa CA & Pardo-galván MA (2015). The eukaryotic translation initiation factor 3f (eIF3f) interacts physically with the alpha 1B-adrenergic receptor and stimulates adrenoceptor activity. *BMC Biochem* **16**, 1–10.
- Hinnebusch AG (2006). eIF3: a versatile scaffold for translation initiation complexes. *Trends Biochem Sci* **31**, 553–562.
- Hodson N & Philp A (2019). The importance of mTOR trafficking for human skeletal muscle translational control. *Exerc Sport Sci Rev* **47**, 46–53.
- Holz MK, Ballif BA, Gygi SP & Blenis J (2005). mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events. *Cell* **123**, 569–580.
- Hornberger TA, Hunter RB, Kandarian SC & Esser KA (2001). Regulation of translation factors during hindlimb unloading and denervation of skeletal muscle in rats. *Am J Physiol Cell Physiol* **281**, C179–C187.
- Jackson RJ, Hellen CUT & Pestova T V (2010). The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* **11**, 113–127.
- Jacobs BL, Goodman CA, You J-S, Hornberger TA, Gundermann DM, Privett RE, Lin K-H, McNally RM & Steinert ND (2019). The role of raptor in the mechanical load-induced regulation of mTOR signaling, protein synthesis, and skeletal muscle hypertrophy. *FASEB J* **33**, 4021–4034.
- Kazi AA, Hong-brown L, Lang SM & Lang CH (2011). Depror knockdown enhances mTOR activity and protein synthesis in myocytes and ameliorates disuse muscle atrophy. *Mol Med* **17**, 925–936.

- Kelleher AR, Kelleher AR & Shantz L (2014). *The regulation of mTORC1 signaling in immobilized rat hindlimb skeletal muscle*. PhD Thesis. Pennsylvania State University.
- Kolupaeva VG, Unbehaun A, Lomakin IB, Hellen CUT & Pestova TV (2005). Binding of eukaryotic initiation factor 3 to ribosomal 40S subunits and its role in ribosomal dissociation and anti-association. *RNA* **11**, 470–486.
- Koyanagi-Katsuta R, Akimitsu N, Hamamoto H, Arimitsu N, Hatano T & Sekimizu K (2002). Embryonic lethality of mutant mice deficient in the p116 gene. *J Biochem* **131**, 833–837.
- Krawiec BJB, Frost RRA, Vary TC, Jefferson LS & Lang CH (2005). Hindlimb casting decreases muscle mass in part by proteasome-dependent proteolysis but independent of protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **289**, E969–E980.
- Kubica N, Bolster DE, Farrell PA, Kimball SE & Jefferson LS (2005). Resistance exercise increases muscle protein synthesis and translation of eukaryotic initiation factor 2B?? mRNA in a mammalian target of rapamycin-dependent manner. *J Biol Chem* **280**, 7570–7580.
- Lagirand-Cantaloube J, Offner N, Csibi A, Leibovitch MP, Batonnet-Pichon S, Tintignac LA, Segura CT & Leibovitch SA (2008). The initiation factor eIF3-f is a major target for atrogen1/MAFbx function in skeletal muscle atrophy. *EMBO J* **27**, 1266–1276.
- Lang SM, Kazi AA, Hong-Brown L & Lang CH (2012). Delayed recovery of skeletal muscle mass following hindlimb immobilization in mTOR heterozygous mice. *PLoS ONE* **7**, e38910.
- Lee ASY, Kranzusch PJ & Cate JHD (2015). EIF3 targets cell-proliferation messenger RNAs for translational activation or repression. *Nature* **522**, 111–114.
- Lee JP, Brauweiler A, Rudolph M, Hooper JE, Drabkin HA & Gemmill RM (2010). The TRC8 ubiquitin ligase is sterol regulated and interacts with lipid and protein biosynthetic pathways. *Mol Cancer Res* **8**, 93–106.
- Liu Y, Neumann P, Kuhle B, Monecke T, Schell S, Chari A & Ficner R (2014). Translation initiation factor eIF3b contains a nine-bladed beta-propeller and interacts with the 40S ribosomal subunit. *Structure* **22**, 923–930.
- Madaro L, Smeriglio P, Molinaro M & Bouché M (2008). Unilateral immobilization: a simple model of limb atrophy in mice. *Basic Appl Myol* **18**, 149–153.
- Majumdar R, Bandyopadhyay A & Maitra U (2003). Mammalian translation initiation factor eIF1 functions with eIF1A and eIF3 in the formation of a stable 40 S preinitiation complex. *J Biol Chem* **278**, 6580–6587.
- Marabita M, Baraldo M, Solagna F, Ceelen JJM, Sartori R, Nolte H, Nemazanyy I, Pyronnet S, Kruger M, Pende M & Blaauw B (2016). S6K1 is required for increasing skeletal muscle force during hypertrophy. *Cell Rep* **17**, 501–513.
- Marchione R, Laurin DL, Liguori L, Leibovitch MP, Leibovitch SA & Lenormand JL (2015). MD11-mediated delivery of recombinant eIF3f induces melanoma and colorectal carcinoma cell death. *Mol Ther – Methods Clin Dev* **2**, 14056.
- Marchione R, Leibovitch SA & Lenormand JL (2013). The translational factor eIF3f: The ambivalent eIF3 subunit. *Cell Mol Life Sci* **70**, 3603–3616.
- Marimuthu K (2011). Signals mediating skeletal muscle remodeling by activity mechanisms regulating muscle mass during disuse atrophy. *J Appl Physiol* **110**, 555–560.
- Martin HC et al. (2017). Autosomal recessive coding variants explain only a small proportion of undiagnosed developmental disorders in the British Isles. *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/201533>.
- Martin HC et al. (2018). Quantifying the contribution of recessive coding variation to developmental disorders. *Sciences (New York)* **362**, 1161–1164.
- Masutani M, Sonenberg N, Yokoyama S & Imataka H (2007). Constititution reveals the functional core of mammalian eIF3. *EMBO J* **26**, 3373–3383.
- Meyuhas O & Kahan T (2014). The race to decipher the top secrets of TOP mRNAs. *Biochim Biophys Acta* **1849**, 801–811.
- Moretti J, Chastagner P, Gastaldello S, Heuss SF, Dirac AM, Bernards R, Masucci MG, Israel A & Brou C (2010). The translation initiation factor 3f (eIF3f) exhibits a deubiquitinase activity regulating notch activation. *PLoS Biol* **23**, e1000545.
- Niemann S, Zhao C, Pascu F, Stahl U, Aulepp U, Niswander L, Weber JL & Müller U (2004). Homozygous WNT3 mutation causes tetra-amelia in a large consanguineous family. *Am J Hum Genet* **74**, 558–563.
- Ogasawara R, Fujita S, Hornberger TA, Kitaoka Y, Makanae Y, Nakazato K & Naokata I (2016). The role of mTOR signalling in the regulation of skeletal muscle mass in a rodent model of resistance exercise. *Sci Rep* **6**, 1–12.
- Ogasawara R & Suginochara T (2018). Rapamycin-insensitive mechanistic target of rapamycin regulates basal and resistance exercise-induced muscle protein synthesis. *FASEB J* **32**, 5824–5834.
- Ohanna M, Sobering AK, Lapointe T, Lorenzo L, Praud C, Petroulakis E, Sonenberg N, Kelly PA, Sotiropoulos A & Pende M (2005). Atrophy of S6K1(–/–) skeletal muscle cells reveals distinct mTOR effectors for cell cycle and size control. *Nat Cell Biol* **7**, 286–294.
- Pérard J, Rasia R, Medenbach J, Ayala I, Boisbouvier J, Drouet E & Baudin F (2009). Human initiation factor eIF3 subunit b interacts with HCV IRES RNA through its N-terminal RNA recognition motif. *FEBS Lett* **583**, 70–74.
- Pessemesse L, Schlernitzauer A, Sar C, Levin J, Grandemange S, Seyer P, Favier FB, Kaminski S, Cabello G, Wrutniak-Cabello C & Casas F (2012). Depletion of the p43 mitochondrial T3 receptor in mice affects skeletal muscle development and activity. *FASEB J* **26**, 748–756.
- Sanchez AMJ, Csibi A, Raibon A, Docquier A, Lagirand-Cantaloube J, Leibovitch MP, Leibovitch SA & Bernardi H (2013). eIF3f: a central regulator of the antagonism atrophy/hypertrophy in skeletal muscle. *Int J Biochem Cell Biol* **45**, 2158–2162.
- Sandri M (2008). Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda)* **23**, 160–170.
- Saxton RA & Sabatini DM (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell* **168**, 960–976.
- Schmidt EK, Clavarino G, Ceppi M & Pierre P (2009). SUnSET, a nonradioactive method to monitor protein synthesis. *Nat Methods* **6**, 275–277.

- Sciarretta S, Volpe M & Sadoshima J (2014). mTOR signaling in cardiac physiology and disease. *Circ Res* **114**, 549–564.
- Shi J, Feng Y, Goulet AC, Vaillancourt RR, Sachs NA, Hershey JW & Nelson MA (2003). The p34cdc2-related cyclin-dependent kinase 11 interacts with the p47 subunit of eukaryotic initiation factor 3 during apoptosis. *J Biol Chem* **278**, 5062–5071.
- Shi J, Hershey JW & Nelson MA (2009). Phosphorylation of the eukaryotic initiation factor 3f by cyclin-dependent kinase 11 during apoptosis. *FEBS Lett* **583**, 971–977.
- Shi J, Kahle A, Hershey JW, Honchak BM, Warneke JA, Leong SPL & Nelson MA (2006). Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f deregulates translation and apoptosis in tumor cells. *Oncogene* **25**, 4923–4936.
- Shimobayashi M & Hall MN (2014). Making new contacts: the mTOR network in metabolism and signalling crosstalk. *Nat Rev Mol Cell Biol* **15**, 155–162.
- Smith LR & Barton ER (2014). SMASH - semi-automatic muscle analysis using segmentation of histology: a MATLAB application. *Skelet Muscle* **4**, 21.
- Swiatek PJ, Lindsell CE, Del Amo FF, Weinmaster G & Gridley T (1994). Notch1 is essential for postimplantation development in mice. *Genes Dev* **8**, 707–719.
- Taillandier D, Arousseau E, Meynial-Denis D, Bechet D, Ferrara M, Cottin P, Ducastaing A, Bigard X, Guezennec CY & Schmid HP (1996). Coordinate activation of lysosomal, Ca²⁺-activated and ATP-ubiquitin-dependent proteinases in the unweighted rat soleus muscle. *Biochem J* **316** (Pt1), 65–72.
- Thoreen CC, Chantranupong L, Keys HR, Wang T, Gray NS & Sabatini DM (2012). A unifying model for mTORC1-mediated regulation of mRNA translation. *Nature* **485**, 109–113.
- Wagenmakers A (1998). Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. *Exerc Sport Sci Rev* **26**, 287–314.
- Wall BT & van Loon LJ (2013). Nutritional strategies to attenuate muscle disuse atrophy. *Nutr Rev* **71**, 195–208.
- Walter BM, Nordhoff C, Varga G, Goncharenko G, Schneider SW, Ludwig S & Wixler V (2012). Mss4 protein is a regulator of stress response and apoptosis. *Cell Death Dis* **3**, e297.
- Wen F, Zhou R, Shen A, Choi A, Uribe D & Shi J (2012). The tumor suppressive role of eIF3f and its function in translation inhibition and rRNA degradation. *PLoS ONE* **7**, e34194.
- You J-S, Anderson GB, Dooley MS & Hornberger TA (2015). The role of mTOR signaling in the regulation of protein synthesis and muscle mass during immobilization in mice. *Dis Model Mech* **8**, 1059–1069.
- You J-S, Park M-N, Song W & Lee Y-S (2010). Dietary fish oil alleviates soleus atrophy during immobilization in association with Akt signaling to p70s6k and E3 ubiquitin ligases in rats. *Appl Physiol Nutr Metab* **35**, 310–318.
- Zeng L, Wan Y, Li D, Wu J, Shao M, Chen J, Hui L, Ji H & Zhu X (2013). The m subunit of murine translation initiation factor eIF3 maintains the integrity of the eIF3 complex and is required for embryonic development, homeostasis, and organ size control. *J Biol Chem* **288**, 30087–30093.
- Zhou C, Arslan F, Wee S, Krishnan S, Ivanov AR, Oliva A, Leatherwood J & Wolf DA (2005). PCI proteins eIF3e and eIF3m define distinct translation initiation factor 3 complexes. *BMC Biol* **3**, 1–16.

Additional information

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author contributions

Experiments were performed at INRA – UMR 866 – Dynamique Musculaire et Métabolisme (Montpellier). CBG was responsible for heterozygous mice generation and crossing. SL initiated the design of the experiments. RC conceived the immobilization study. CS carried out the Nanozoomer experiments at the imaging platform of the Institute of Neurosciences of Montpellier. AD, LP, AR and HB performed data analysis. AD, LP, CBG and HB wrote the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript submitted for publication and agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. All persons designated as authors qualify for authorship, and all those who qualify for authorship are listed.

Funding

This work was supported by grants from the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), the Institut National du Cancer (INCa, grant N°PLBIO10-207), the Région Languedoc-Roussillon. LP was a recipient of a stipend from the INRA and the Association Installation à Domicile Epurations Rénales (AIDER Santé).

Acknowledgements

We thank F. Sabatier for expert technical assistance. We are grateful to A. Sanchez for reading the manuscript and helpful discussions and also to the members of UMR866 for support. We thank the animal staff from Metamus DMEM facility, which belongs to the Montpellier animal facilities network (RAM, Biocampus). We thank F. Favier for his help with the high-throughput fluidics approach and C. Barjan and E. Pasquier for their help with the histological studies. We also greatly acknowledge the 'Réseau d'Histologie Expérimentale de Montpellier' (RHEM, Biocampus) platform for histology core facilities, especially L. Pesseme. We thank C. Dubois for her helpful corrections to the English in the manuscript submitted for publication. The authors of this manuscript certify that they have complied with ethical guidelines for authorship and publishing in the *Journal of Physiology*.

Synthèse

La création de modèles animaux invalidés pour le gène *eIF3f* révèle en premier lieu que la déplétion totale du gène conduit à la nécrose des embryons à un stade précoce. L'expression de ce facteur d'initiation de la traduction est ainsi nécessaire au développement embryonnaire chez la souris. En revanche, l'invalidation partielle du gène chez les souris hétérozygotes KO (*eIF3f* +/-) n'altère ni le développement, ni la fertilité, indiquant que la présence d'une seule copie du gène est suffisante pour assurer le développement normal des animaux. Les souris hétérozygotes présentent à la fois une expression protéique de *eIF3f* diminuée de moitié dans le muscle strié squelettique ainsi qu'une diminution de la synthèse protéique avec une inhibition de la voie associée à mTOR sans activation du système ubiquitine-protéasome ou de l'autophagie. Il est intéressant de noter qu'il existe une relation linéaire entre les niveaux d'expression de l'ARNm et de la protéine *eIF3f* chez ces animaux, indiquant qu'il n'existe pas de processus compensatoire à l'invalidation d'un seul allèle.

La caractérisation phénotypique des souris *eIF3f* +/- montre que la déplétion partielle en *eIF3f* entraîne une diminution de la masse corporelle des animaux provenant principalement d'une réduction de la masse musculaire. Les muscles des souris *eIF3f* +/- présentent une diminution de la surface de section sans que le nombre de fibres ou la typologie ne soient affectés. Ainsi, la diminution d'expression de *eIF3f* altère la croissance musculaire en diminuant l'activité de synthèse protéique dépendante de MTORC1, réduisant le contenu protéique sans modifier l'activité de dégradation à l'état basal. Cette diminution de la synthèse protéique s'accompagne d'une réduction du nombre de ribosomes. L'association de ceux-ci en polysomes est aussi diminuée dans les muscles des souris hétérozygotes comme les gastrocnémiens et le quadriceps. La biogenèse des ribosomes étant en partie dépendante de MTORC1, le partenariat de ce complexe avec *eIF3f* semble aussi jouer un rôle dans la synthèse de ces organites cellulaires indispensables à la synthèse des protéines *in vivo*.

Les données issues de la littérature suggèrent que l'activité de MTORC1 est responsable de 30 à 50% du flux de synthèse protéique à l'état basal^{140,300,301}. L'expression résiduelle de *eIF3f* chez les souris hétérozygotes permet ainsi à une partie de l'activité de synthèse dépendante de MTORC1 d'être conservée. On sait en revanche que des mécanismes indépendants de cette voie de signalisation assurent une part non négligeable du flux de synthèse que le modèle partiellement invalidé pour *eIF3f* ne permet pas d'étudier. Une expérimentation utilisant la rapamycine, ou encore la mise au point d'un modèle homozygote invalidé pour *eIF3f*, inductible et spécifique du muscle strié squelettique, permettrait de clarifier la part des mécanismes dépendants et indépendants de MTORC1 ainsi que l'étude plus approfondie du rôle de *eIF3f* dans le taux de synthèse protéique à l'état basal.

Chez les souris hétérozygotes, la réduction du flux de synthèse à l'état basal est associée à une diminution de l'activation de S6K1 et de la phosphorylation de rpS6. Ces résultats confirment le rôle de eIF3f comme protéine échafaudage permettant l'interaction entre MTORC1 et S6K1. La déplétion partielle en eIF3f induisant aussi une inhibition en lien avec la voie signalétique impliquant 4EBP1, on ne peut alors exclure un rôle de eIF3f dans l'interaction entre MTORC1 et ce sous-effecteur. Au vu de la proximité des sites de liaison de S6K1 et 4EBP1 avec la protéine mTOR, il est possible que eIF3f favorise aussi la phosphorylation de 4EBP1 en rapprochant MTORC1 du site d'interaction. Par ailleurs, les voies de dégradation analysées dans cette étude montrent que l'inhibition partielle de eIF3f n'impacte ni l'activité du système ubiquitine-protéasome, ni l'autophagie. A l'état basal, l'étude du modèle de souris eIF3f +/- confirme ainsi que eIF3f détient principalement un rôle dans la régulation de la synthèse protéique associée à MTORC1.

L'hypoactivité induit principalement la réduction de l'activité de synthèse protéique, déjà perceptible après 6 heures d'immobilisation, et provoque un déséquilibre entre le taux de synthèse et le taux de dégradation protéique. Ainsi, la principale voie de synthèse qu'est la voie PI3K/Akt/mTOR est sensible à l'inactivité physique et donc à l'immobilisation. Lorsqu'elle est altérée, elle ne contrebalance plus l'activité de dégradation et l'homéostasie de la masse musculaire est perturbée³⁷³. Les différentes durées d'immobilisation montrent une atrophie progressive des muscles privés de cycles étirement-raccourcissement comme ceux impliqués dans la mobilité du genou tel que le quadriceps, dont l'articulation est bloquée par la structure rigide apposée. Le maintien en position raccourcie, en l'absence de tension passive d'un muscle comme le quadriceps favorise la perte d'intégrité de ses sarcomères¹³⁶ et donc la perte de masse. La réduction de la surface de section du quadriceps après seulement 3 jours d'immobilisation confirme que la perte en volume des fibres intervient de façon précoce.

La mise en décharge mécanique du muscle adulte provoque ainsi la réduction de la masse musculaire et de la surface de section des fibres par diminution du taux de synthèse protéique. Chez les animaux sauvages, l'immobilisation diminue le flux de synthèse et augmente simultanément l'activité de mTOR et de ses sous-effecteurs pour lutter contre l'atrophie induite. L'expression de eIF3f est induite de façon concomitante au cours de la mise en décharge, mais chez les souris eIF3f +/-, cette réponse à l'immobilisation est altérée, avec une réduction de l'expression de eIF3f induite et de l'activation de MTORC1 menant à la diminution drastique du flux de synthèse par rapport aux animaux sauvages. L'immobilisation provoque aussi l'activation rapide du système ubiquitine-protéasome et l'expression de MAFbx. Cette induction de l'ubiquitine ligase pourrait être responsable de la dégradation de eIF3f par le protéasome contribuant à réduire consécutivement l'activation de S6K1. Cette part de

dégradation protéique induite par l'immobilisation pourrait donc aussi expliquer la sensibilité accrue des animaux hétérozygotes à l'atrophie induite par hypoactivité.

Ces résultats soulignent ainsi plusieurs éléments contribuant à la compréhension des mécanismes régulant la balance protéique musculaire :

- La présence d'au moins un allèle du gène eIF3f est nécessaire au développement précoce des embryons et à leur viabilité.
- La présence des deux allèles du gène eIF3f est nécessaire à l'intégrité de la croissance musculaire au cours du développement.
- A l'état basal, l'expression de eIF3f assure la synthèse des ribosomes et le flux de synthèse protéique associé à MTORC1 mais n'impacte pas la dégradation protéique.
- En condition d'hypoactivité, l'expression de eIF3f permet de lutter contre la diminution de la masse musculaire et de la surface des fibres.
- En condition d'hypoactivité, l'expression de eIF3f est induite et permet de lutter contre la diminution du flux de synthèse par le biais de MTORC1 et de ses sous-effecteurs.

Etude #4 : Effets fonctionnels et métaboliques de la déplétion partielle en eIF3f

Pour déterminer l'impact de la baisse du niveau d'expression de eIF3f sur les capacités fonctionnelles, la force, l'endurance et le métabolisme des souris hétérozygotes KO (eIF3f +/-) élevées au laboratoire ont été étudiés à l'âge adulte.

Rationnel scientifique et hypothèses

La voie MTORC1 joue de nombreux rôles dans la cellule musculaire et notamment dans le métabolisme⁴¹⁹. Le muscle squelettique est le principal site d'absorption du glucose après la prise alimentaire et en réponse à l'insuline. MTORC1 joue ainsi un rôle essentiel dans l'homéostasie du glucose en ajustant la cascade d'action de l'insuline par l'intermédiaire de la signalisation associée à Akt dans différents tissus, y compris le tissu adipeux et le foie^{285,419}. Des perturbations dans l'activation de MTORC1 entraînent des changements métaboliques majeurs dans tout l'organisme, pouvant mener à l'intolérance au glucose, à la résistance à l'insuline et contribuant donc à l'apparition d'un diabète de type 2 et à l'obésité¹⁴⁸. Par ailleurs, un mauvais contrôle de l'équilibre énergétique au sein de la cellule musculaire est impliqué dans de nombreux cas de dystrophies musculaires et joue un rôle critique dans les maladies métaboliques^{29,346}.

La voie associée à MTORC1 est impliquée dans la biogenèse des mitochondries au travers de plusieurs mécanismes impliquant notamment son sous-effecteur 4EBP1²⁸⁵. MTORC1 contrôle également le métabolisme énergétique en stimulant l'activité de plusieurs acteurs clés tels que PGC1 α , régulateur majeur de la biogenèse mitochondriale⁴¹⁵. Les mitochondries sont responsables de la majorité de la production d'ATP dans la cellule et jouent un rôle critique dans la balance énergétique et la régulation du stress oxydant²⁹. L'inhibition de la protéine mTOR entraîne une dysfonction mitochondriale et la diminution des capacités de production d'ATP^{27,285}. Au niveau moléculaire, la baisse d'activité de mTOR engendre l'inhibition préférentielle de la traduction d'un sous-ensemble d'ARNm cellulaires qui codent pour des protéines mitochondriales, y compris les composants de la chaîne respiratoire²⁸⁵.

L'invalidation inductible de mTOR dans le muscle squelettique adulte conduit à des perturbations du métabolisme incluant une altération de la capacité oxydative et une dérégulation mitochondriale chez la souris^{26,346}. La mutation entraîne par ailleurs une augmentation de la consommation de glucose à l'état basal et une accumulation de glycogène dans le muscle strié squelettique¹⁴⁸. Dans les cellules musculaires squelettiques des souris RAMKO, l'inactivation de la protéine RAPTOR du complexe MTORC1 conduit à l'inhibition de l'expression de gènes codant pour des protéines régulant le métabolisme du glucose et l'oxydation des acides gras²⁷. Les souris RAMKO affichent également une

dépense énergétique quotidienne plus élevée en lien avec une surexpression des protéines découplantes UCP2 et UCP3, diminuant l'efficacité de la production d'ATP dans la mitochondrie¹⁴⁸. On observe aussi chez ces souris une réduction du nombre de mitochondries dans les muscles squelettiques et une moindre capacité oxydative que l'expression transgénique de PGC1 α permet de restaurer²⁷.

Par ailleurs, dans le modèle de souris inductible mTOR-, Risson et al. ont mis en évidence une altération des propriétés contractiles indépendante de la typologie musculaire. Chez ces souris présentant une atrophie progressive, les capacités de production de force apparaissent nettement plus impactées que la masse musculaire³⁴⁶. De façon surprenante, les muscles des souris RAmKO présentent des propriétés contractiles moins altérées que les souris mTOR-³⁴⁶. Chez les souris RAmKO, le soléaire, muscle lent, conserve ses capacités de production de force tandis que le tibialis, à typologie rapide, présente une perte de force importante³⁴⁶. Il apparaît alors que mTOR et RAPTOR ont un impact différent sur l'intégrité du muscle sans que les mécanismes sous-jacents de cette disparité ne soient élucidés : l'inactivation de mTOR entraîne aussi la perte de protéines structurales dans le muscle menant à une myopathie sévère alors que ce phénotype n'est pas retrouvé chez les souris RAmKO³⁴⁶.

Une altération de la voie de signalisation associée à MTORC1 pourrait ainsi avoir un impact sur le métabolisme et la contractilité du tissu musculaire des souris eIF3f +/-. Le premier objectif de cette étude est ainsi de caractériser les effets d'une croissance musculaire altérée par la déplétion partielle en eIF3f sur la physiologie des souris eIF3f +/- en comparaison à des animaux sauvages (eIF3f +/+) à l'âge adulte (6 mois). L'hypothèse principale de cette étude est que la déplétion en eIF3f chez ces animaux se traduit par une réduction des capacités de production de force en lien avec la perte de masse musculaire. Les hypothèses secondaires de ce travail sont que les animaux partiellement invalidés (i) présentent une diminution d'aptitudes fonctionnelles (ii) et de capacité aérobie (iii) qui s'accompagne de modifications d'ordre métabolique (iv) impactant l'utilisation des différents substrats énergétiques. La vérification de ces hypothèses permettra de caractériser les impacts fonctionnels et métaboliques liés à la déplétion en eIF3f *in vivo* et de mieux cerner les rôles de ce facteur d'initiation de la traduction dans la fonctionnalité du tissu musculaire et de son métabolisme.

Implication personnelle

J'ai personnellement participé à la conception et à la mise en place des expérimentations, à la rédaction de la demande d'autorisation de protocoles expérimentaux pour la saisine APAFIS, à la gestion des lignées pour la production du nombre d'animaux nécessaires, au suivi de la prise alimentaire et de la température corporelle, à l'analyse des capacités fonctionnelles des souris, à la

dissection et au prélèvement des tissus, à la mesure de la tolérance au glucose et à l'insuline, à l'évaluation de la contractilité *ex-vivo*, à la quantification des ARN messagers et des expressions protéiques, à l'acquisition et au traitement des données ainsi qu'à la rédaction de l'article dont je suis le premier auteur.

L'analyse des données et la rédaction de cet article sont en cours de finalisation.

Résultats

Distribution des fibres

Les souris *eIF3f* +/- présentent une diminution de leur masse musculaire (-7% chez les femelles et -8% chez les mâles) décrite dans l'étude précédente. Cette diminution s'explique par une surface de section des fibres réduite (-26% pour le soléaire et -17% pour l'EDL) tandis que le nombre de fibres n'est pas affecté. La typologie des muscles étudiée précédemment ne montre pas non plus de différence significative au regard de l'expression des chaînes lourdes de myosine. Dans cette étude, nous avons choisi de compléter la caractérisation du phénotype musculaire des souris hétérozygotes en analysant la distribution des fibres sur un muscle lent tel que le soléaire et un muscle rapide comme l'EDL. La distribution des fibres par leur taille (Figure 1) indique une réduction du nombre de fibres de gros calibre au profit des fibres de plus petit diamètre à la fois dans le soléaire (Figure 1A) et dans l'EDL (Figure 1B).

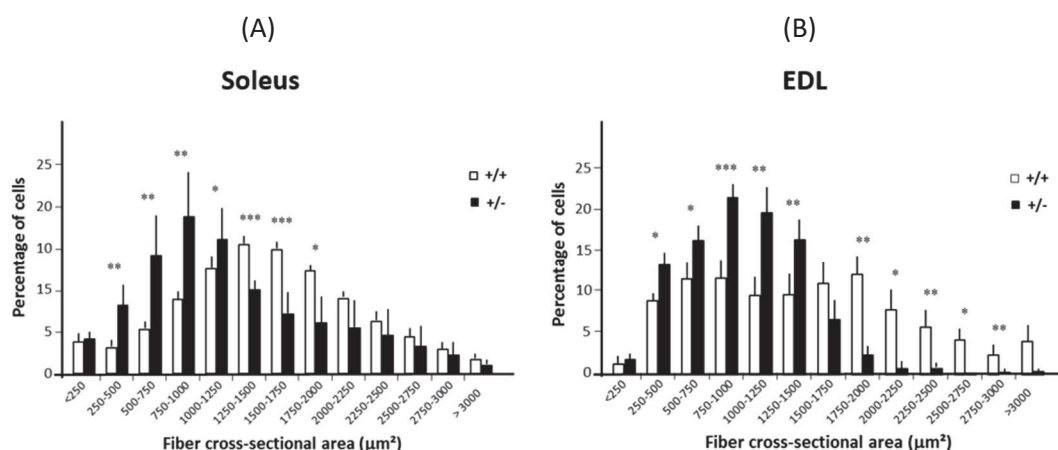


Figure 1 : Distribution des fibres par leur taille dans (A) le soléaire et (B) l'EDL des souris *eIF3f* +/- en comparaison à leurs homologues sauvages *eIF3f* +/+ ($n=6$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$ et *** : $p < 0,001$.

Capacités fonctionnelles

Au regard des modifications phénotypiques observées chez nos animaux hétérozygotes, nous avons choisi d'évaluer leurs capacités fonctionnelles. Chez la souris, on évalue principalement les aptitudes physiques par la force maximale de préhension, la vitesse maximale aérobie et le temps limite. Ces données pouvant être influencées par l'activité naturelle des animaux, et nous avons choisi d'évaluer en premier lieu l'activité spontanée des souris sauvages et eIF3f +/- . Les souris n'ont pas montré de différence d'activité spontanée mesurée sur roues d'activité, avec en moyenne **2836,5 ± 396.1** tours de roue quotidiens pour les souris sauvages contre **2823,9 ± 236,2** tours pour les souris eIF3f +/- (p>0,05, n=6 par génotype). L'analyse des capacités fonctionnelles révèle que les souris eIF3f +/- présentent une force maximale de préhension diminuée d'environ 6% (Figure 2A). Le test de vitesse maximale aérobie (VMA) ne montre pas de différence entre les génotypes (Figure 2B).

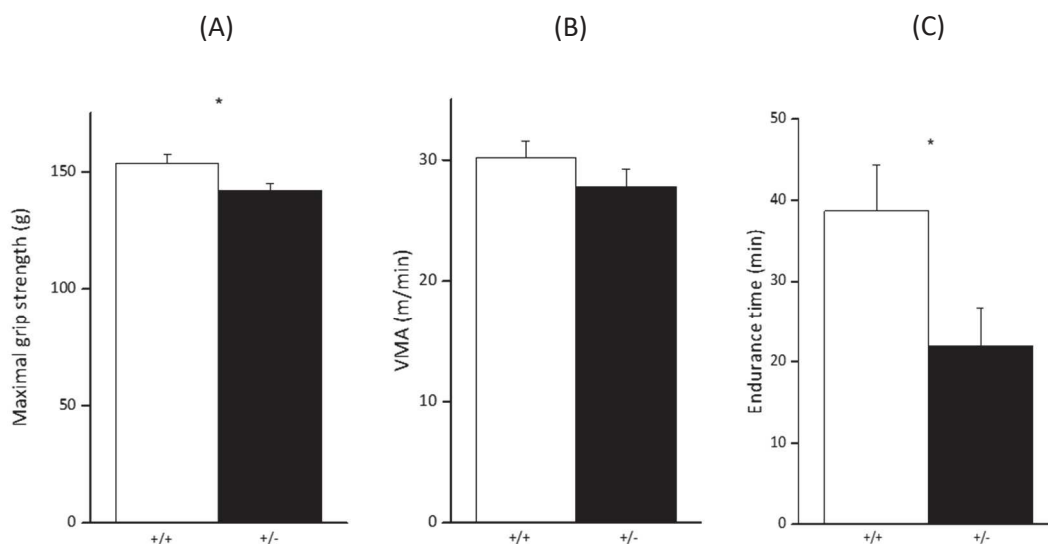


Figure 2 : Evaluation (A) de la force maximale de préhension, (B) de la vitesse maximale aérobie (VMA), et (C) de la capacité d'endurance des souris eIF3f +/- en comparaison à leurs homologues sauvages eIF3f +/+ (n=6 par génotype). Les données sont présentées en moyenne ± SEM. * : p < 0,05.

En revanche, les souris partiellement invalidées montrent une nette réduction de leur capacité à maintenir un effort d'endurance à 70% de leur VMA (Figure 2C). Lors de ce test, les souris eIF3f +/- ont présenté une fatigue précoce avec une incapacité totale à courir au bout de **22,1 ± 3,8** minutes alors qu'il fallait en moyenne **39,2 ± 4,9** minutes avant que les souris sauvages ne montrent des signes d'épuisement.

Propriétés contractiles

Pour étudier l'effet de la déplétion en eIF3f sur les propriétés biomécaniques des muscles et comprendre le défaut de résistance à la fatigue des souris hétérozygotes, nous avons choisi d'analyser

les propriétés contractiles *ex-vivo* sur les muscles soléaire et EDL. Parmi les paramètres étudiés, la relation force-fréquence décrit les capacités de production de force du muscle soumis à une stimulation incrémentale. Les souris *eIF3f +/-* montrent une diminution de la force maximale produite à la fois pour le soléaire (Figure 3A) et pour l'EDL (Figure 3B).

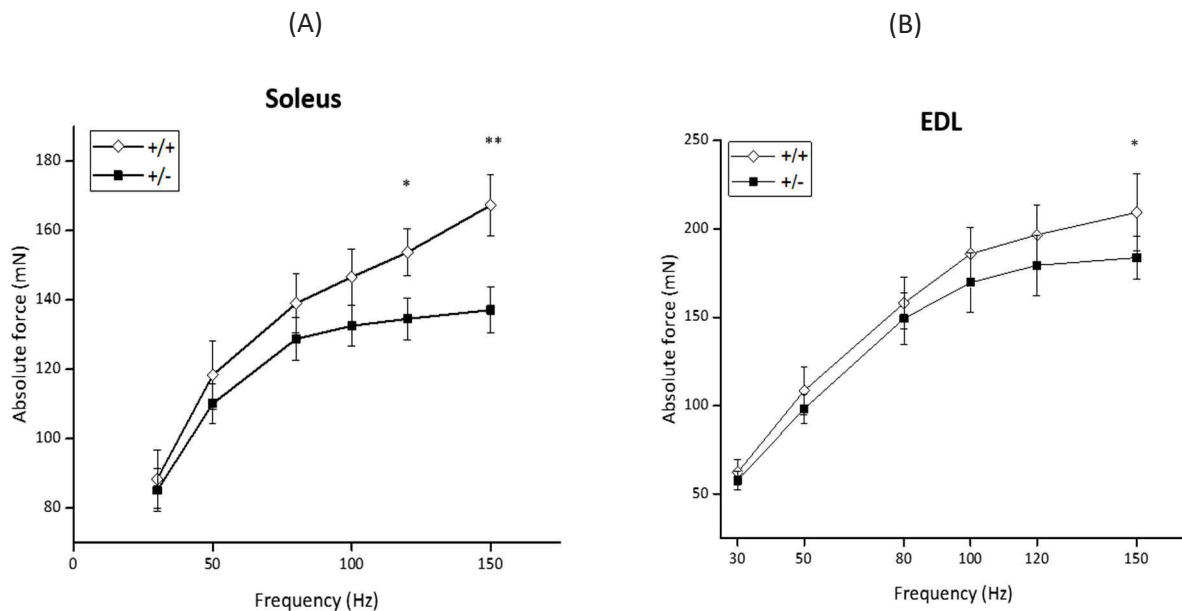


Figure 3 : Relation force-fréquence (A) du muscle soléaire et (B) de l'EDL des souris *eIF3f +/-* en comparaison à leurs homologues sauvages *eIF3f +/+* ($n=10$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. * : $p < 0,05$ et ** : $p < 0,01$.

Néanmoins, lorsque la force produite est rapportée à la masse respective des muscles, les capacités de production de force spécifique du soléaire (Figure 4A) et de l'EDL (Figure 4B) ne diffèrent pas entre les génotypes.

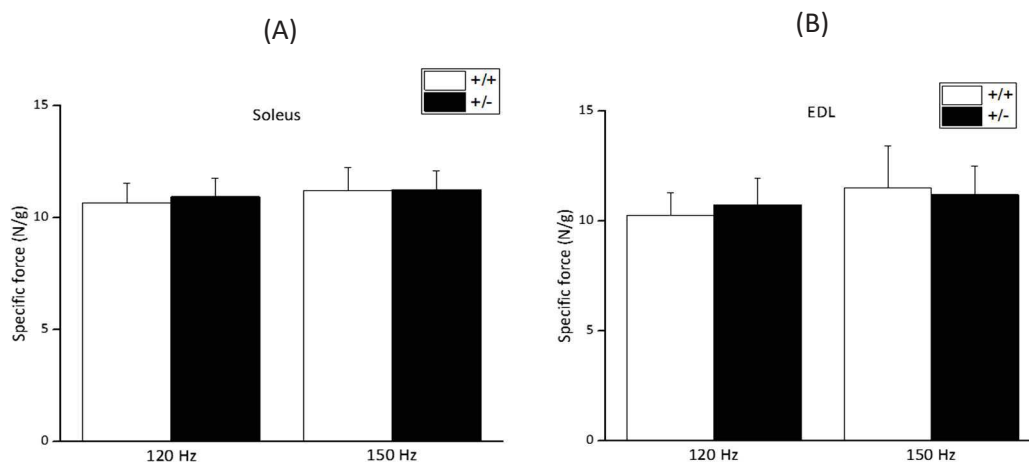


Figure 4 : Force spécifique (A) du muscle soléaire et (B) de l'EDL des souris *eIF3f +/-* en comparaison à leurs homologues sauvages *eIF3f +/+* ($n=10$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM.

La résistance à la fatigue du soléaire et de l'EDL est présentée en Figure 5. Le temps correspondant à une diminution de 50% de la force initiale (F50%) apparaît diminué chez les souris eIF3f +/- mais cette tendance n'est significative ni pour le soléaire ($p=0,11$), ni pour l'EDL ($p=0,14$).

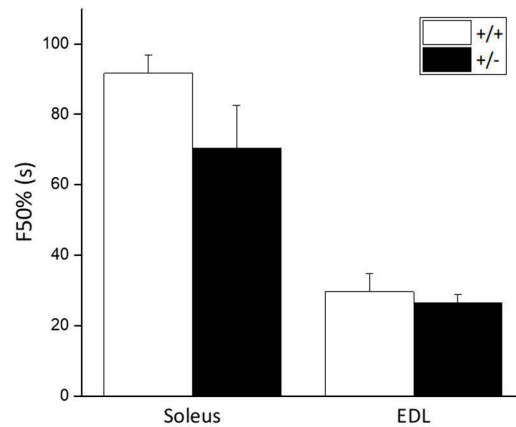


Figure 5: Résistance à la fatigue évaluée par le temps correspondant à une perte de 50% de la force initiale (F50%) du soléaire (à gauche) et de l'EDL (à droite) des souris eIF3f +/- en comparaison à leurs homologues sauvages eIF3f +/+ ($n=10$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM.

Métabolisme basal

La performance en endurance étant aussi sous l'influence des capacités d'apport énergétique, le métabolisme basal des souris sauvages et eIF3f +/- a été évalué par cages métaboliques. Les échanges gazeux en dioxygène (Figure 6A) et en dioxyde de carbone (Figure 6B) apparaissent augmentés chez les souris hétérozygotes en comparaison avec leurs homologues sauvages. Le rapport entre le CO₂ produit et l'O₂ consommé définit le coefficient d'échange respiratoire (RER). Les souris eIF3f +/- présentent un RER diminué comparé au souris sauvages (Figure 6C).

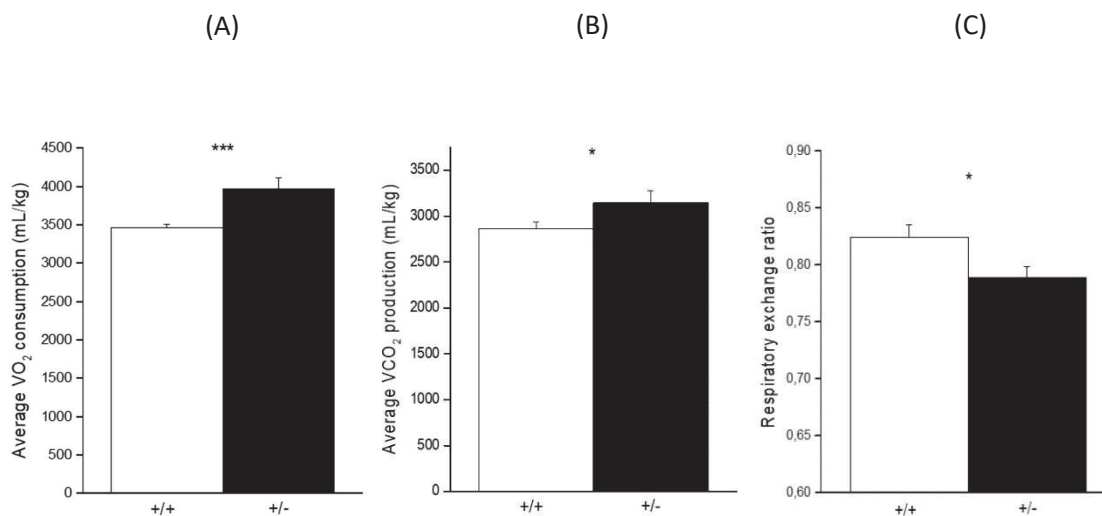


Figure 6 : Evaluation des échanges gazeux (A) en dioxygène (O₂) et (B) en dioxyde de carbone (CO₂) permettant de calculer (C) le coefficient d'échange respiratoire (RER) des souris eIF3f +/- en comparaison à leurs homologues sauvages eIF3f +/+ ($n=6$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. * : $p < 0,05$ et *** : $p < 0,001$.

A partir de ce coefficient d'échange respiratoire, il est possible d'estimer l'utilisation des principaux substrats. La production d'énergie par les différentes voies métaboliques ne requiert pas le même apport en oxygène : l'oxydation des carbohydrates produit autant de CO₂ qu'elle nécessite d'O₂, menant à un RER = 1, tandis que l'oxydation des lipides rejette une quantité de CO₂ équivalente à 0,7 fois la quantité d'O₂ consommé, abaissant le RER. La diminution du coefficient d'échange respiratoire chez les souris eIF3f +/- suggère donc une oxydation préférentielle des lipides pour parvenir à la production d'ATP (Figure 7).

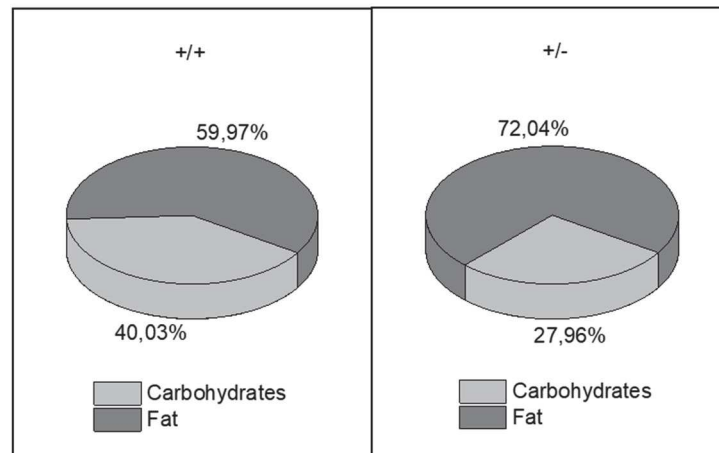


Figure 7 : Utilisation des substrats énergétiques chez les souris eIF3f +/- en comparaison à leurs homologues sauvages eIF3f +/+ (n=6 par génotype).

Les cages métaboliques permettent également d'estimer la dépense énergétique quotidienne des animaux. Sur 24 heures, la dépense énergétique apparait équivalente entre les génotypes (Figure 8A). Cependant, le métabolisme de base étant directement relié à la masse corporelle, les souris eIF3f +/- affichent une dépense énergétique supérieure aux souris sauvages lorsque celle-ci est rapportée à leur poids (Figure 8B).

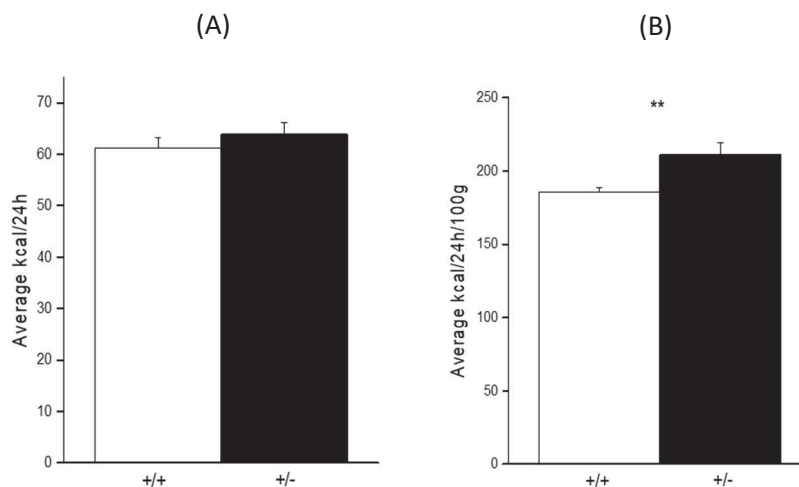


Figure 8 : Evaluation (A) de la dépense énergétique globale puis (B) rapportée à la masse corporelle des souris eIF3f +/- en comparaison à leurs homologues sauvages eIF3f +/+ (n=6 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. * : $p < 0,05$ et ** : $p < 0,01$.

Métabolisme glucidique

Le métabolisme basal montrant une altération de l'utilisation des carbohydrates au profit des substrats lipidiques, le métabolisme glucidique des souris *eIF3f +/-* a été évalué par un test de tolérance au glucose (OGTT) et par un test de tolérance à l'insuline (ITT). A l'état basal, aucune différence de glycémie n'a été mise en évidence entre les génotypes même si la glycémie à jeun présente une tendance ($p = 0.09$) à être moins élevée chez les souris hétérozygotes (Figure 9).

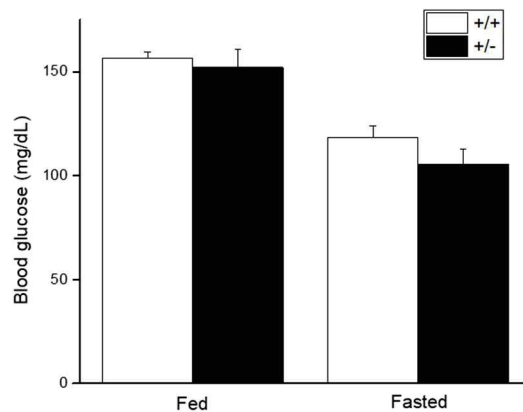


Figure 9 : Evaluation de la glycémie des souris *eIF3f +/-* nourries (Fed) puis mises à jeun (Fasted) en comparaison à leurs homologues sauvages *eIF3f +/+* ($n=6$ par génotype).

Lors du test de tolérance au glucose, les souris *eIF3f +/-* n'ont pas montré de différence dans la phase d'augmentation de la glycémie comparé aux animaux sauvages (Figure 10A). En revanche, la diminution de la glycémie apparaît plus rapide chez les souris hétérozygotes (Figure 10B).

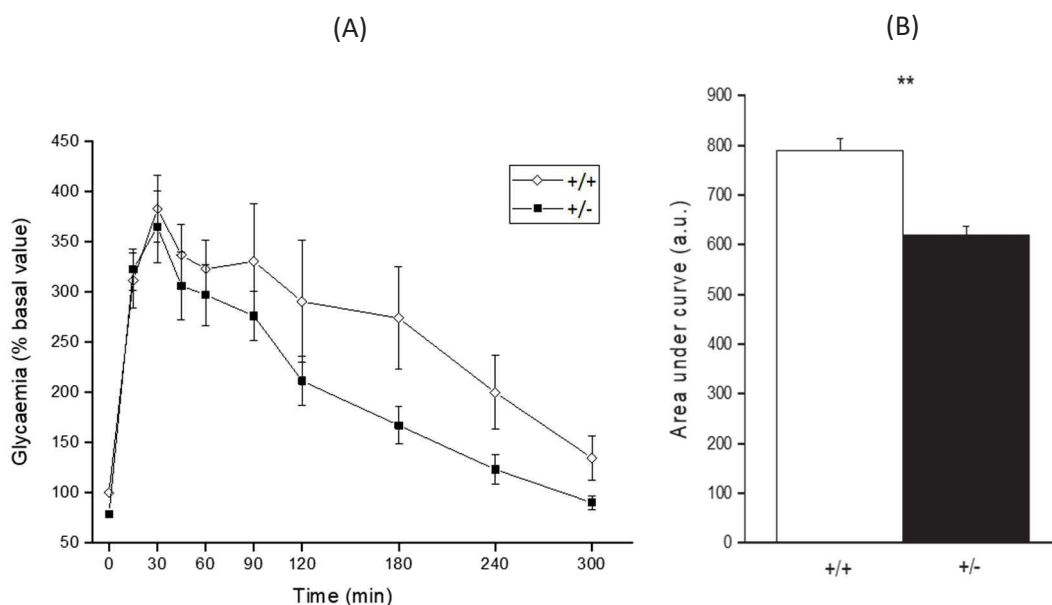


Figure 10 : Evolution (A) de la glycémie au cours du test de tolérance au glucose permettant (B) le calcul de l'aire sous la courbe pour les souris *eIF3f +/-* et leurs homologues sauvages *eIF3f +/+* ($n=6$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. **: $p < 0,01$.

Lors du test de tolérance à l'insuline, la réponse glycémique des souris eIF3f +/- est significativement différente des animaux sauvages (Figure 11A). Les souris eIF3f +/- présentent ainsi une moindre diminution de la glycémie au regard de l'aire sous la courbe (Figure 11B).

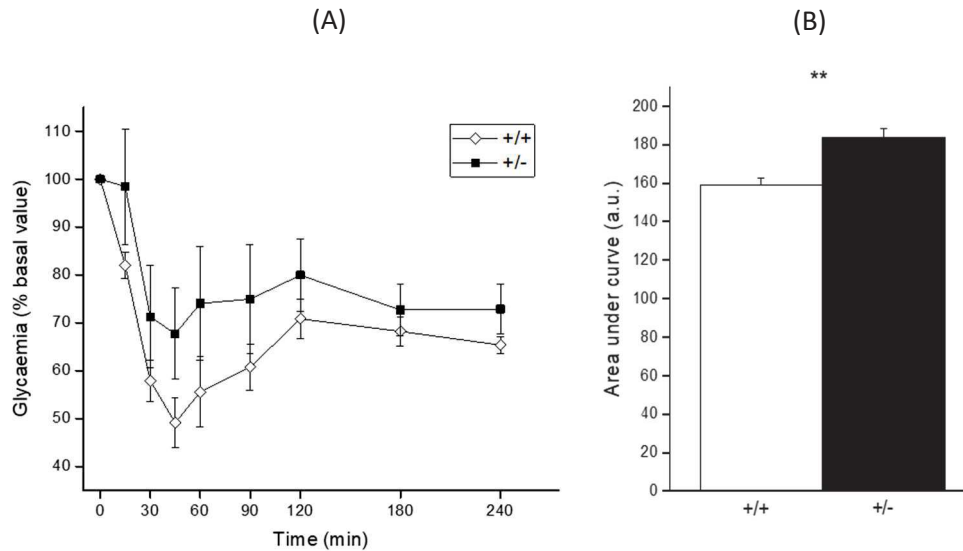


Figure 11 : Evolution (A) de la glycémie au cours du test de tolérance à l'insuline permettant (B) le calcul de l'aire sous la courbe pour les souris eIF3f +/- et leurs homologues sauvages eIF3f +/+ (n=6 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. **: $p < 0,01$.

Marqueurs métaboliques

Pour comprendre les différences métaboliques des souris eIF3f +/-, plusieurs marqueurs métaboliques ont été quantifiés par PCR en temps réel pour les muscles gastrocnémiens, à phénotype mixte (Table 1). L'expression des ARNm étudiés a été rapportée à un invariant, le gène de ménage codant pour la protéine rpS9 (ribosomal protein S9). Les données ont été analysées par la méthode du $2^{-\Delta\Delta Ct}$ reflétant les variations d'expression des ARN messagers entre les animaux sauvages et hétérozygotes.

Real-time PCR analysis	eIF3f +/- / eIF3f +/+	
	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	SEM
ATP Synthase	1,19	0,18
COX IV	0,97	0,11
GLUT4	0,95	0,21
Hexokinase 2	0,90	0,32
UCP3	2,08*	0,13

Table 1. Analyse par PCR en temps réel de l'expression des ARNm codant pour l'ATP Synthase, COX IV, GLUT4, Hexokinase 2 et UCP3 dans les muscles gastrocnémiens des souris sauvages et hétérozygotes (n=8 par génotype). Trois réplicats de chaque réaction ont été réalisés. * : $p < 0,05$.

Parmi les ARN messagers étudiés, seule l'expression de l'ARNm codant pour la protéine UCP3 (Uncoupling Protein 3) est augmentée chez les souris présentant une déplétion partielle en eIF3f. En comparaison avec les souris sauvages, l'expression de cet ARNm est doublée chez les souris eIF3f +/- . A partir de ces résultats, l'expression de certains marqueurs métaboliques comme PGC1 α et GLUT4 a aussi été quantifiée par Western Blot à partir des muscles gastrocnémiens des souris eIF3f +/- et sauvages. Parmi les marqueurs étudiés, seule la protéine UCP3 apparaît 5 fois surexprimée chez les souris hétérozygotes (Figure 12).

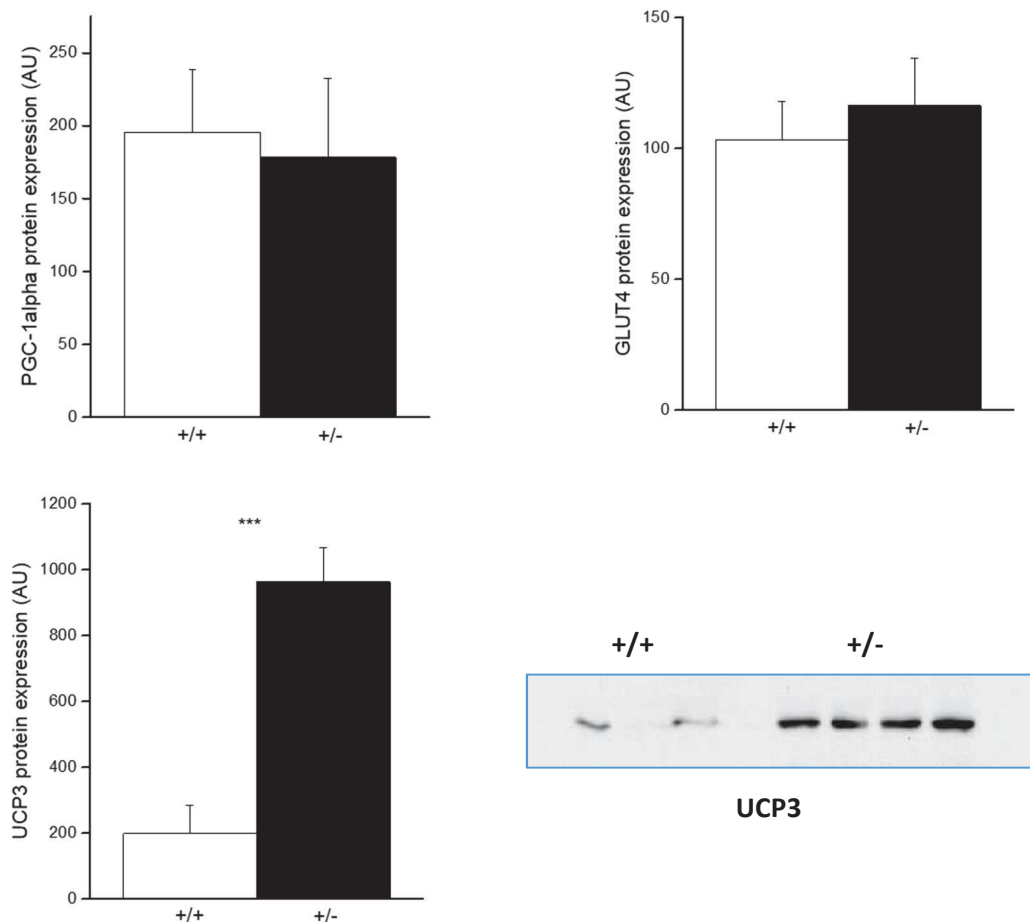


Figure 12: Expressions protéiques de PGC-1 α , GLUT4 et UCP3 dans les gastrocnémiens des souris eIF3f +/- et leurs homologues sauvages eIF3f +/+ (n=6 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. *** : $p < 0,01$.

Parmi les éléments déterminant l'activité du métabolisme oxydatif, la citrate synthase (CS) catalyse la réaction irréversible de formation du citrate et de libération de la coenzyme A à la 1^{ère} étape du cycle de Krebs, où elle engage la voie métabolique de production d'ATP par oxydation des substrats. La CS est considérée comme un marqueur de la masse mitochondriale et permet d'évaluer la capacité oxydative du tissu musculaire. L'activité de la CS a été quantifiée dans les muscles gastrocnémiens des souris eIF3f +/- et eIF3f +/+ mais ne semble pas affectée par l'expression de eIF3f (Figure 13).

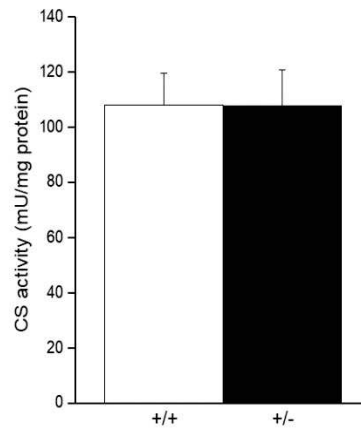


Figure 13: Activité de la citrate synthase dans les gastrocnémiens des souris *eIF3f*^{+/-} et leurs homologues sauvages *eIF3f*^{+/+} (n=8 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM

Synthèse

Les souris hétérozygotes présentent une altération de la croissance musculaire menant à la réduction de la masse musculaire atteinte à l'âge adulte. Cette diminution de la quantité du tissu musculaire est reflétée par une réduction de la surface de section des fibres. La distribution par taille de fibres montre la diminution voire l'absence de fibres de gros calibre aussi bien dans l'EDL que dans le soléaire. La masse et la surface de section du soléaire sont davantage impactées par la déplétion en *eIF3f* où la réduction des fibres de gros calibre se fait au profit des fibres de petit diamètre dont le nombre est fortement augmenté chez les souris hétérozygotes. L'EDL est en revanche plus affecté par la disparition des fibres de gros diamètre cette fois-ci au profit des fibres de moyen calibre, expliquant que la réduction globale de la surface de section soit moins importante dans l'EDL que dans le soléaire.

La diminution de la masse maigre des souris hétérozygotes, d'en moyenne 7%, est associée à une moindre force de préhension comparée aux souris sauvages. La masse et la fonction musculaire ne sont pas toujours proportionnelles, mais il apparaît ici que l'amplitude de la réduction de la quantité de tissu est corrélée à la diminution de la force maximale. En revanche, la différence de composition corporelle n'affecte pas la vitesse maximale aérobie des souris *eIF3f*^{+/-}. Si la déplétion partielle en *eIF3f* n'impacte pas la vitesse maximale aérobie (VMA) des souris, elle conduit à un épuisement précoce lors d'un effort prolongé. La diminution du temps limite sans variation des capacités d'apport en oxygène chez les souris hétérozygotes suggère une moindre efficacité d'origine biomécanique ou métabolique empêchant de suppléer à la demande générée par un effort d'endurance.

L'exploration des propriétés contractiles des muscles des souris hétérozygotes a été réalisée par contractilité *ex-vivo*, permettant de s'affranchir de nombreux facteurs systémiques de la performance

musculaire et aussi du comportement des souris. Les capacités de production de force du soléaire et de l'EDL apparaissent impactées par la déplétion en eIF3f au regard de la force maximale absolue. Cette diminution de la force produite à stimulation maximale est d'autant plus importante dans le soléaire, plus impacté par la perte de surface des fibres chez les souris hétérozygotes. La force spécifique, tenant compte de la quantité de tissu musculaire, permet de normaliser les valeurs entre les génotypes. Ces résultats indiquent que la diminution du contenu protéique des fibres chez les souris hétérozygotes semble affecter le système contractile qui perd de ses propriétés de production de force.

Par ailleurs, la résistance à la fatigue des deux muscles étudiés tend à être diminuée chez les souris partiellement invalidées. Cette différence, quoique non significative, est plus prononcée sur le soléaire que sur l'EDL pour lequel les résultats apparaissent plus variables. Même si ces données méritent d'être complétées, on peut supposer que la déplétion en eIF3f altère non seulement la production de force mais aussi la capacité à la maintenir sur un temps prolongé. La réduction globale des capacités fonctionnelles semble alors provenir en partie de la masse musculaire moins développée engendrant une redistribution des fibres affectant les propriétés contractiles des muscles quelle que soit leur typologie. Toutefois, la différence de résistance à la fatigue n'apparaît pas suffisamment prononcée pour constituer un facteur déterminant de l'aptitude à l'endurance réduite chez les souris hétérozygotes. L'ensemble de ces données indique alors que l'altération des propriétés mécaniques des muscles n'est pas à l'origine de l'intolérance à l'effort importante et suggère plutôt qu'une altération du métabolisme limite de façon majeure l'apport énergétique au cours d'un effort prolongé chez les souris hétérozygotes.

L'analyse du métabolisme des souris révèle un impact important de la déplétion en eIF3f sur les échanges gazeux. L'augmentation de la consommation d'oxygène étant plus importante que l'élévation de la quantité de dioxyde de carbone rejetée, les souris hétérozygotes présentent une diminution du coefficient d'échange respiratoire qui suggère une oxydation préférentielle des lipides pour parvenir à la production d'ATP. Le coefficient d'échange respiratoire est sous l'influence de plusieurs facteurs, comme l'apport nutritionnel, la température extérieure ou la balance énergétique³³⁶. La consommation d'oxygène ainsi que la quantité de dioxyde de carbone rejetée sont également augmentées chez les souris RAMKO mais le coefficient d'échange respiratoire est inchangé chez ces animaux à l'état basal¹⁴⁸.

Les souris eIF3f +/- apparaissent comme hypermétaboliques, avec une élévation de leur dépense énergétique quotidienne non proportionnelle à leur masse corporelle et musculaire. Cette différence de consommation énergétique et de RER n'est pas expliquée par l'apport en nourriture ou la

température corporelle des souris eIF3f +/-, ces paramètres étant similaires entre les génotypes. Les souris RAmKO présentent aussi une augmentation de la dépense énergétique quotidienne mais leur prise alimentaire est également augmentée¹⁴⁸. Cette surconsommation énergétique chez les souris eIF3f +/- pourrait alors refléter une inefficacité de l'organisme à produire de l'énergie mobilisable, menant à accélérer le métabolisme pour palier au déficit de couplage de la phosphorylation oxydative et subvenir aux besoins énergétiques.

De façon surprenante, les souris hétérozygotes pour eIF3f présentent à la fois une meilleure utilisation du glucose et une résistance à l'insuline. Les souris RAmKO affichent également une résistance à l'insuline à l'état basal mais sans variation de la tolérance au glucose¹⁴⁸. Le développement de l'insulinorésistance chez ces animaux semble être la conséquence d'une accumulation toxique de lipides intramusculaires provoquée par un métabolisme lipidique altéré¹⁴⁸. L'altération du métabolisme chez les souris eIF3f +/- semble donc différer des modifications induites par la suppression de la protéine RAPTOR. Dans l'attente de résultats complémentaires, nous pouvons émettre l'hypothèse que les souris eIF3f +/- affichent des taux élevés d'insuline circulante à l'état basal. Cette augmentation pourrait expliquer que les souris déficientes en eIF3f présentent une meilleure utilisation du glucose et ont tendance à afficher une glycémie plus basse que les souris sauvages à jeun. Cette hypothèse permettrait aussi d'expliquer la résistance à l'insuline observée chez ces animaux, pour qui la dose administrée ne serait pas suffisante pour diminuer sensiblement la glycémie.

L'ensemble de ces données suggère que la déplétion partielle en eIF3f affecte plusieurs voies métaboliques, avec à la fois une meilleure utilisation des carbohydrates et une capacité d'oxydation des substrats lipidiques d'autant plus importante. L'activité de la citrate synthase apparait inchangée chez les souris hétérozygotes et ne soutient pas l'hypothèse d'une augmentation du métabolisme liée à l'entrée dans le cycle de Krebs, tout comme l'expression des marqueurs relatifs aux mitochondries qui ne semble pas être impactée chez les souris hétérozygotes. L'absence de variations majeures sur ces différents marqueurs indique que la biogenèse et la quantité de mitochondries ne semblent pas affectées par la déplétion en eIF3f et ne sont donc pas à l'origine de l'intolérance à l'effort des souris eIF3f +/- . On ne peut en revanche exclure une différence de fonctionnalité des mitochondries dans la capacité de production d'ATP mobilisable lors d'un effort d'endurance.

Au regard des autres marqueurs métaboliques, il apparait que la déplétion partielle en eIF3f mène à la surexpression des ARNm et de la protéine UCP3 (Uncoupling Protein 3). Cette protéine découplante située au niveau de la membrane mitochondriale dévie le flux de protons et d'anions nécessaires à la production d'ATP par l'ATP synthase dans la chaîne de transport des électrons³²⁸. Il a été démontré chez des cellules humaines en culture que la surexpression d'UCP3 augmente l'oxydation des

nutriments en diminuant le potentiel de membrane des mitochondries par fuite de protons et en augmentant l'inhibition de l'oxydation du glucose dépendante des acides gras¹³⁴. L'élévation des niveaux d'expression d'UCP3 est également associée chez l'animal à une augmentation de la glycolyse et de l'absorption du glucose ainsi qu'à une production anormale de chaleur^{289,294}. Au regard de la surexpression importante de la protéine UCP3, un découplage de la phosphorylation oxydative et la déperdition énergétique sous forme de chaleur consécutive pourraient expliquer l'épuisement précoce des souris eIF3f +/- lors de l'épreuve d'endurance.

L'expression normale de l'ATP synthase chez les souris eIF3f +/- semble indiquer que la production d'ATP par le complexe V de la chaîne de transport des électrons n'est pas impactée par l'expression de eIF3f et renforce l'hypothèse d'un découplage entre l'oxydation des substrats et la phosphorylation de l'ADP induit par la surexpression d'UCP3. L'analyse plus poussée de la respiration mitochondriale sur des organites isolés réalisable au laboratoire permettra de vérifier l'intégrité de fonctionnement des complexes de la chaîne respiratoire et d'affirmer ou non cette hypothèse. Toutefois, cette étude indique que eIF3f pourrait inhiber à la fois la transcription et la traduction d'UCP3, et il est alors intéressant de noter qu'UCP3 est principalement exprimée dans le muscle strié squelettique. A ce jour, les mécanismes régulant l'expression de cette protéine découplante ne sont pas complètement décrits mais pourraient impliquer de façon directe ou indirecte des interactions avec le facteur d'initiation de la traduction eIF3f spécifiques du tissu musculaire.

Cette étude encore incomplète nécessite de continuer les expérimentations. L'étude histologique des propriétés métaboliques musculaires pourra être complétée par le marquage de la succinate déshydrogénase, de la cytochrome oxydase (COX) ou NADH-TR (Nicotinamide adénine dinucléotide) sur les muscles des souris eIF3f +/- . L'analyse d'autres paramètres de contractilité *ex-vivo*, comme la vitesse de contraction et le temps de relaxation, pourront préciser les propriétés contractiles des muscles des souris eIF3f +/- . En complément, l'activité de la citrate synthase devra être analysée sur le soléaire et l'EDL, de même que l'expression des marqueurs métaboliques jusqu'ici étudiée sur les gastrocnémiens afin de préciser l'impact de la diminution d'expression de eIF3f sur des muscles de typologie différente. Le temps limite pouvant aussi être influencé par une diminution des stocks en glycogène musculaire et par une acidification du milieu intracellulaire liée aux produits métaboliques, ces paramètres seront à analyser chez les souris hétérozygotes pour comprendre pleinement leur inaptitude à soutenir un effort de longue durée.

La quantification des taux circulants d'insuline sera réalisée grâce à un kit ELISA à partir des prélèvements de sang réalisés au cours de l'OGTT et de l'ITT. Cette analyse permettra de valider ou non l'hypothèse d'une élévation des taux d'insuline circulante chez les souris eIF3f +/- . De même, le

dosage musculaire du contenu en glycogène et en triglycérides permettra de mieux cerner l'influence de eIF3f sur le métabolisme glucidique et le stockage énergétique. Enfin, l'analyse de l'efficacité de la respiration mitochondriale apparaît comme un élément incontournable pour compléter cette étude. L'expertise du laboratoire dans ce domaine permettra de confirmer l'hypothèse d'un découplage important de la phosphorylation oxydative et d'une fuite de protons de la mitochondrie en lien avec la surexpression d'UCP3 dans les muscles des souris eIF3f +/-.

Enfin, il convient de noter que la déplétion en eIF3f chez nos souris hétérozygotes n'est pas circonscrite au tissu musculaire, limitant ainsi la comparaison de nos données avec les modèles inductibles de déplétion de mTOR et RAPTOR spécifiques du muscle strié squelettique. La création d'un modèle inductible de déplétion totale en eIF3f, spécifique du muscle, permettrait d'établir plus précisément les rôles physiologiques et métaboliques de eIF3f dans la fonction musculaire à l'âge adulte.

Néanmoins, ces premières données soulignent plusieurs éléments contribuant à la compréhension des rôles fonctionnels et métaboliques de la protéine eIF3f :

- L'expression de eIF3f permet la croissance complète des fibres musculaires et particulièrement celles de gros calibre quelle que soit la typologie musculaire.
- La sous-expression de eIF3f entraîne bien une diminution des capacités fonctionnelles mais contrairement à notre hypothèse, elle n'a pas d'influence sur la vitesse maximale aérobie.
- La protéine eIF3f influe sur les propriétés contractiles du muscle sans impacter de façon particulière la force spécifique produite par quantité de tissu.
- L'expression de eIF3f impacte le métabolisme et l'utilisation des substrats et pourrait réguler le fonctionnement de la phosphorylation oxydative par l'intermédiaire de la protéine UCP3.
- La diminution des aptitudes fonctionnelles observée chez les souris partiellement invalidées pour eIF3f est en lien avec des altérations d'ordre biomécanique et métabolique.

Etude #5 : Effets physiologiques de la surexpression de eIF3f

Afin d'étudier l'impact de la surexpression de eIF3f dans le muscle strié squelettique sur l'homéostasie de la masse musculaire *in vivo*, les souris double transgéniques pour la protéine eIF3f (Tg/Tg) créées et élevées au laboratoire ont été étudiées au cours de leur développement puis en condition d'hypoactivité.

Rationnel scientifique et hypothèses

Le facteur d'initiation de la traduction eIF3f exerce un rôle pivot dans la balance protéique musculaire. Lors de la croissance et de l'hypertrophie, eIF3f permet l'initiation de la synthèse protéique dépendante de MTORC1 ; mais à l'inverse, en condition pro-atrophique, eIF3f devient une cible de polyubiquitination par MAFbx conduisant à sa dégradation par le protéasome et à la diminution de l'activité de synthèse. Les rôles de eIF3f au sein de l'antagonisme entre hypertrophie et atrophie musculaire ont d'abord été décrits sur des modèles cellulaires, et les approches par invalidation et surexpression sur un modèle animal permettent de mieux comprendre les fonctions de ce facteur d'initiation de la traduction dans des conditions physiologiques.

In vitro, les sites d'ubiquitination de eIF3f par MAFbx ont été supprimés pour créer une forme mutante, eIF3f K5-10R. Cette mutation de six résidus lysine rend la protéine eIF3f résistante à la dégradation par le protéasome médiée par l'ubiquitine ligase MAFbx et son expression protège les myotubes de l'atrophie induite⁸⁶. Cette résistance à l'atrophie musculaire fait appel à l'augmentation de l'activité de synthèse protéique dépendante de MTORC1 conduisant à une phosphorylation persistante de S6K1 et de rpS6⁸⁶. Enfin, l'activation génétique de eIF3f induit une hypertrophie musculaire avec une augmentation de la phosphorylation des substrats de MTORC1 tels que S6K1 et 4EBP1³⁷².

Pour aborder plus précisément les fonctions de eIF3f *in vivo* et compléter les résultats obtenus sur les souris partiellement invalidées, un modèle de souris double transgénique surexprimant le transgène eIF3f K5-10R a été développé au laboratoire. Les souris double transgéniques pour le gène eIF3f expriment à la fois la forme native du gène eIF3f et la forme mutée (eIF3f K5-10R) spécifiquement dans le muscle strié squelettique. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'impact de la surexpression de eIF3f sur la croissance musculaire au cours du développement. En utilisant le modèle d'immobilisation de la patte décrit précédemment, cette étude vise aussi à déterminer l'impact de l'expression de la forme mutée de eIF3f résistante à la dégradation par le système ubiquitine-protéasome sur la résistance à l'atrophie des muscles immobilisés.

Le premier objectif de cette étude est ainsi de caractériser le modèle animal surexprimant la protéine eIF3f résistante à la dégradation par le protéasome dans le muscle squelettique et de comprendre les conséquences phénotypiques de cette mutation au cours du développement et à l'âge adulte. L'hypothèse principale de cette étude est que l'insertion de transgènes *eIF3f* K5-10R entraîne la surexpression de eIF3f K5-10R spécifiquement dans les muscles striés squelettiques. Les hypothèses secondaires de ce travail sont que les muscles surexprimant la protéine eIF3f (i) présentent une augmentation de l'activité de synthèse protéique (ii) associée à une plus forte activité de MTORC1 et de ses substrats (iii) pouvant impacter positivement le développement du tissu musculaire (iv) et son maintien en réponse à l'atrophie induite par immobilisation de la patte. La vérification de ces hypothèses permettra de caractériser l'impact physiologique de la surexpression de la forme mutée de eIF3f *in vivo* et d'appréhender les rôles de ce facteur d'initiation de la traduction dans la balance protéique musculaire.

Implication personnelle

J'ai personnellement participé à la conception et à la mise en place des expérimentations relatives à l'immobilisation, au choix de la méthode d'immobilisation et à son développement au laboratoire, à la rédaction de la demande d'autorisation de protocoles expérimentaux pour la saisine APAFIS, à la gestion des lignées pour la production du nombre d'animaux nécessaires, à l'analyse de la composition corporelle des souris, à la dissection et au prélèvement des tissus, à la mesure du flux de synthèse protéique, à la détermination des surfaces de section, à la quantification des expressions protéiques, à l'acquisition et au traitement des données ainsi qu'à la rédaction de l'article dont je suis le premier auteur.

L'analyse des données et la rédaction de cet article sont en cours de finalisation.

Résultats

Génération des animaux transgéniques

Les souris double transgéniques (eIF3f Tg/Tg) sont viables, fertiles et ne présentent pas d'anomalies phénotypiques par rapport aux souris sauvages de même fond génétique C57Bl6/J. Le génotypage des animaux par PCR permet de confirmer l'intégration du transgène eIF3f K5-10R chez les souris Tg/Tg en utilisant les amorces spécifiques de la forme native de eIF3f (324 pb) et de la forme mutée, eIF3f K5-10R (212 pb) (Figure 1A). L'analyse du niveau d'expression de l'ARNm codant pour eIF3f (Figure 1B) montre une surexpression importante dans les muscles des souris double transgéniques ($p < 0,001$).

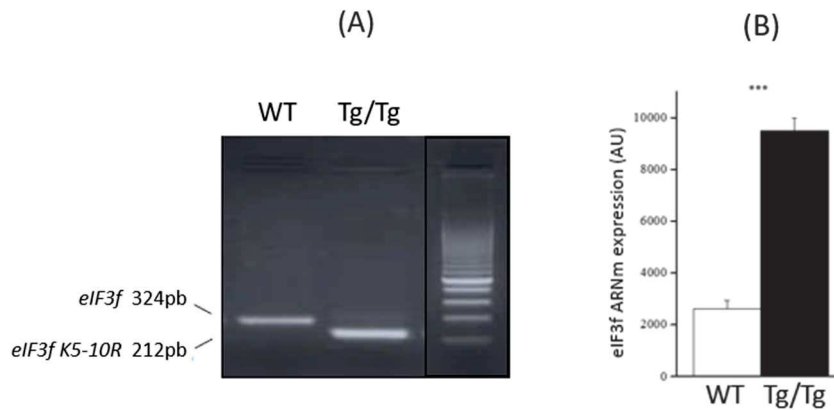


Figure 1 : (A) Intégration du transgène *eIF3f* K5-10R et (B) expression de l'ARNm codant pour *eIF3f* dans les muscles des souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. *** : $p < 0,001$.

Nous avons ensuite examiné l'expression de la protéine eIF3f dans les muscles squelettiques (Figure 2A). À l'état basal, les niveaux d'expression de eIF3f sont significativement plus élevés (4 à 6 fois) dans les muscles gastrocnémiens des souris double transgéniques ($p < 0,001$). Les souris double transgéniques expriment à la fois la forme endogène de eIF3f et la forme exogène portant le tag HA codée par le transgène *eIF3f* K5-10R dans le muscle strié squelettique (Figure 2B). Ces résultats ont également confirmé que la protéine exogène n'est pas exprimée dans d'autres tissus.

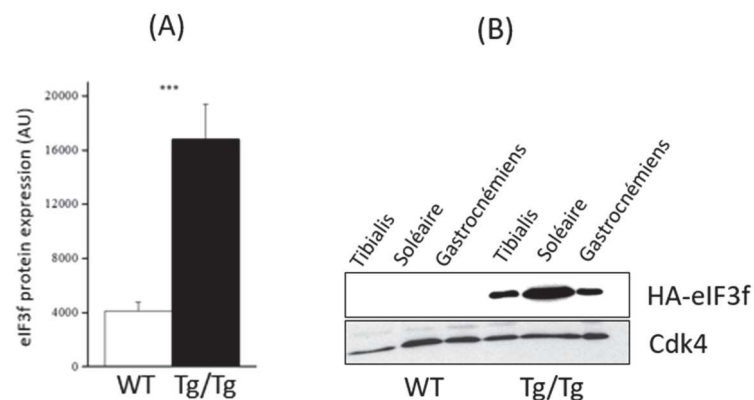


Figure 2 : Expression de (A) la protéine eIF3f totale dans les gastrocnémiens et (B) de la protéine exogène portant le tag HA dans les muscles tibialis, soléaire et gastrocnémiens des souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. *** : $p < 0,001$.

Phénotype des souris transgéniques

À l'âge de 4 mois, les souris transgéniques *eIF3f* affichent un phénotype normal et ne sont pas différenciables des animaux sauvages. Le poids des animaux n'a révélé aucune différence entre les génotypes quel que soit le sexe (Figure 3A). La composition corporelle analysée par IRM ne montre pas de différence de masse maigre des souris double transgéniques (Figure 3B).

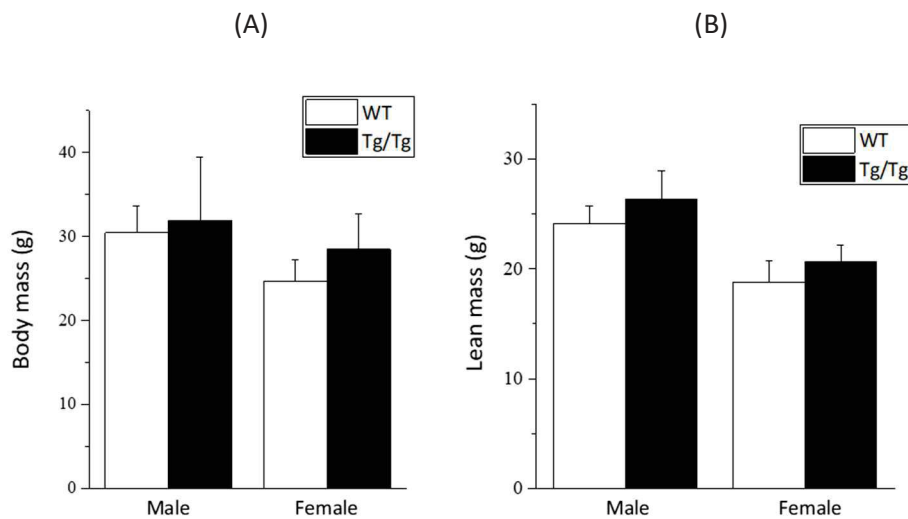


Figure 3 : (A) Masse corporelle et (B) composition en masse maigre des souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) (n=8 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM.

Pour les principaux organes, les données recueillies sont conformes à une composition corporelle normale sans effet de la mutation dans les tissus non musculaires où le transgène n'est pas exprimé (Figure 4).

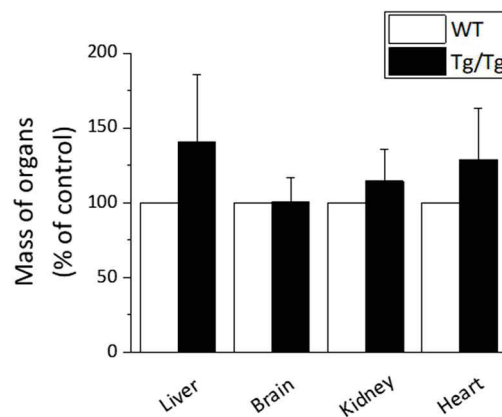


Figure 4 : Masse du foie, du cerveau, du rein et du cœur des souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) (n=8 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM.

Synthèse protéique à l'état basal

La quantification des niveaux d'expression des substrats de MTORC1 dans les muscles gastrocnémiens des souris Tg/Tg à l'état basal a été réalisée par Western Blot (Figure 5). L'analyse révèle que la

surexpression de eIF3f chez les souris transgéniques n'a pas d'effet sur l'activité de la voie MTORC1 dans des conditions normales.

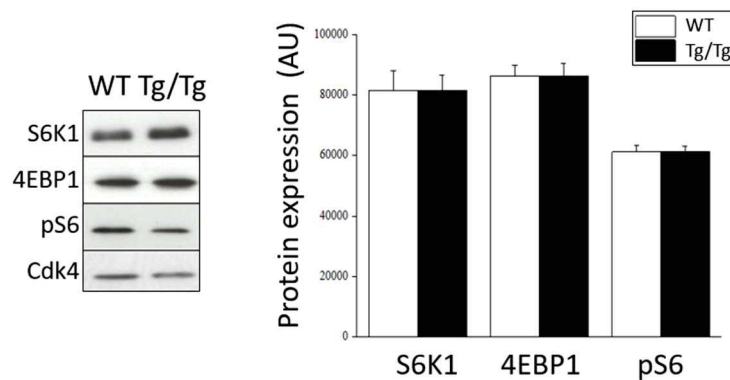


Figure 5 : Expression protéique des sous-effecteurs de MTORC1 à l'état basal chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) (n=8 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM.

Immobilisation unilatérale de la patte

Le protocole d'immobilisation unilatérale de la patte utilisé pour les souris hétérozygotes eIF3f +/- a été appliqué aux souris transgéniques. L'analyse des variations de masse des muscles gastrocnémiens montre une résistance des souris transgéniques à l'atrophie induite au cours de la première semaine d'immobilisation (Figure 6A).

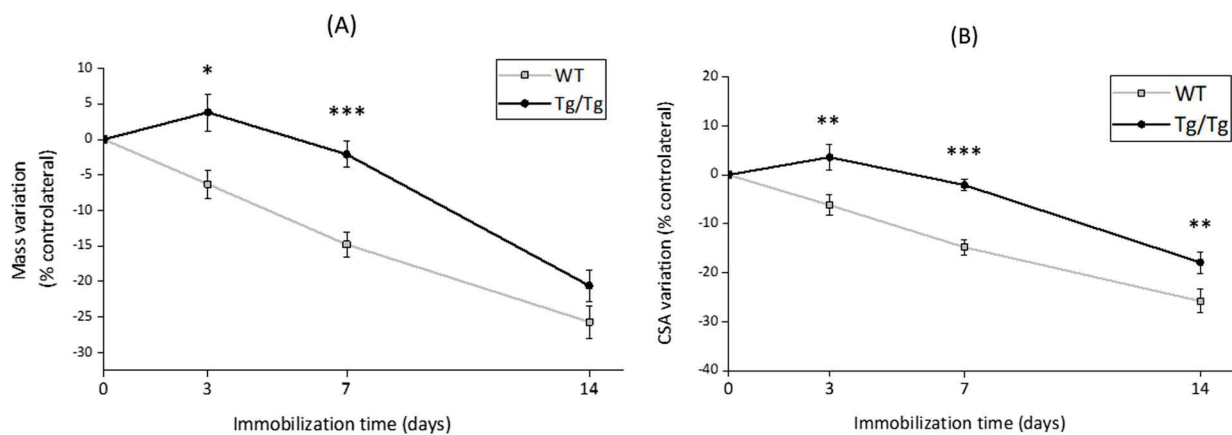


Figure 6 : Evolution de (A) la masse et (B) la surface de section des gastrocnémiens au cours de l'immobilisation chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) (n=8 par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$ et *** : $p < 0,001$

Ces résultats sont confirmés par la quantification de la surface de section de ce même muscle qui ne diminue pas chez les souris transgéniques après 7 jours d'immobilisation (Figure 6B). Que ce soit au travers de la perte de masse ou de la perte de surface, l'atrophie est significativement moins importante chez les souris transgéniques que chez les souris sauvages au cours de la première semaine d'immobilisation ($p < 0,001$).

La détermination des surfaces de section des fibres a permis d'établir leur distribution par taille au sein du muscle gastrocnémien après une semaine d'immobilisation (Figure 7). Chez les souris sauvages, la perte de surface de section se traduit par une diminution du nombre de fibres de gros calibre au profit des fibres de petit diamètre, modifiant la répartition globale dans la patte immobilisée comparé au membre controlatéral. Chez les souris transgéniques, la surface de section des fibres n'est pas réduite après 7 jours d'immobilisation et la distribution par taille des fibres est inchangée entre les deux pattes.

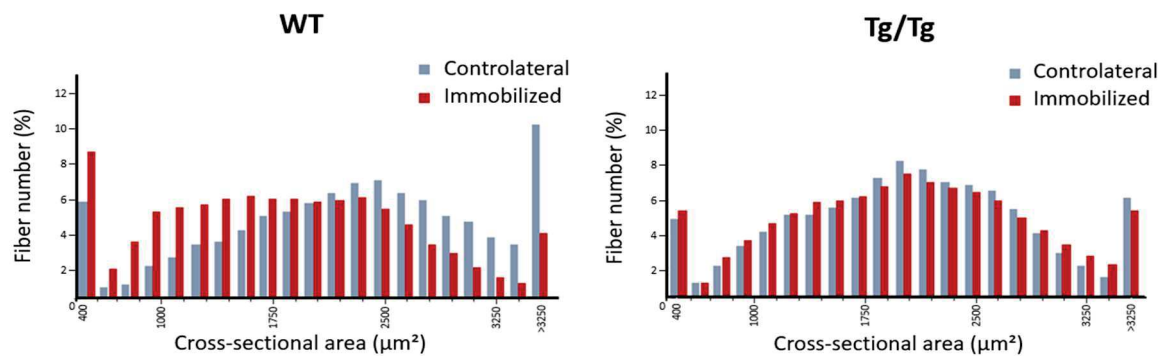


Figure 7 : Evolution de la distribution des fibres par taille après une semaine d'immobilisation chez les souris sauvages (WT) et chez les souris double transgéniques (Tg/Tg)

L'évaluation du taux de synthèse protéique mesuré par incorporation de puromycine montre que l'activité de synthèse protéique diminue progressivement dans le membre immobilisé au cours du protocole chez les animaux sauvages (Figure 8). Chez les souris transgéniques, une forte induction ($+68,2 \pm 29,3\%$, $p < 0,001$) de la synthèse protéique est observée dès le 3^{ème} jour d'immobilisation. Ce taux élevé est aussi retrouvé dans la patte immobilisée après 7 et 14 jours d'immobilisation comparé au membre controlatéral.

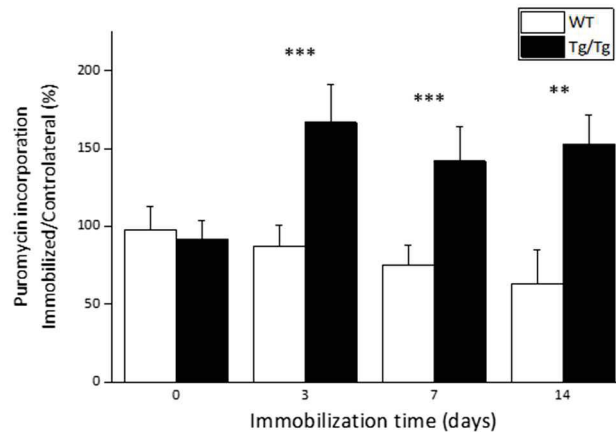


Figure 8 : Activation de la synthèse protéique au cours de l'immobilisation chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. ** : $p<0,01$ et *** : $p<0,001$

L'expression de la protéine eIF3f est induite chez tous les animaux en réponse à l'hypoactivité dans la patte immobilisée (Figure 9). Cette augmentation est d'autant plus importante chez les animaux porteurs de la mutation ($p<0,01$) après 3 jours d'immobilisation. Cette importante induction d'expression de eIF3f est maintenue jusqu'à la fin du protocole chez les souris double transgéniques tandis qu'elle diminue après une semaine d'immobilisation chez les animaux sauvages ($p<0,001$).

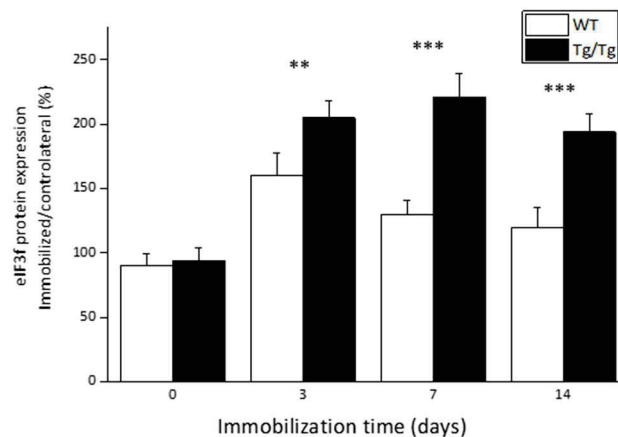


Figure 9 : Expression protéique de eIF3f au cours de l'immobilisation chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. ** : $p<0,01$ et *** : $p<0,001$

L'activité des différents marqueurs de la synthèse protéique dépendante de MTORC1 a été quantifiée par Western Blot (Figure 10). Au 3^{ème} jour d'immobilisation, l'activité des protéines mTOR, S6K1 et S6 est significativement plus importante dans les gastrocnémiens des souris transgéniques comparé aux

souris sauvages ($p < 0,05$). Après une semaine d'hypoactivité, l'activité de mTOR se normalise dans le membre immobilisé et ne montre plus de différence entre les génotypes alors que l'activation de ses effecteurs S6K1 et S6 persiste chez les animaux surexprimant eIF3f K5-10R au 7^{ème} jour ($p < 0,05$). Enfin, l'activité de 4EBP1 ne montre pas de variation au cours de l'immobilisation et ce quel que soit le génotype.

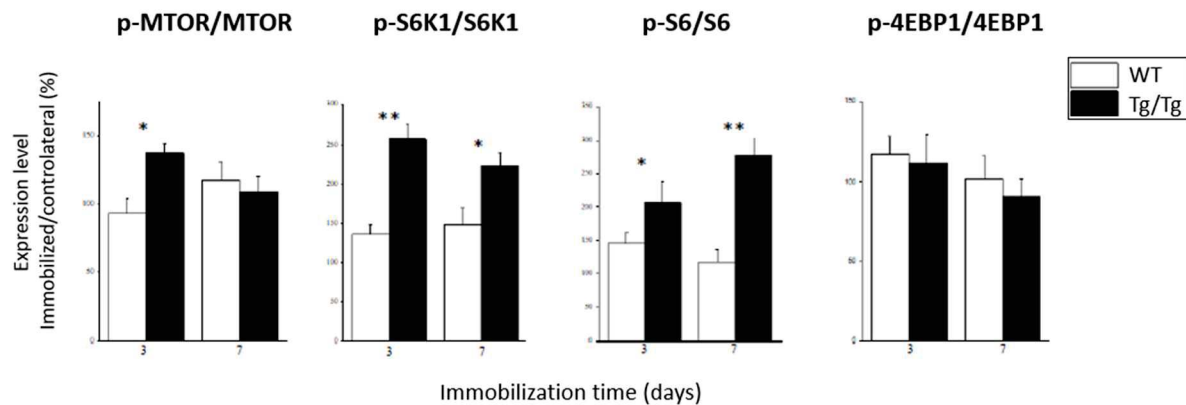


Figure 10 : Activité de mTOR, S6K1, S6 et 4EBP1 au cours de la première semaine d'immobilisation chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. * : $p < 0,05$ et ** : $p < 0,01$

Afin de déterminer l'implication de la synthèse protéique associée à mTOR, les souris sauvages et double transgéniques ont été traitées quotidiennement à la rapamycine (1,5 mg/kg) permettant l'inhibition du complexe MTORC1.

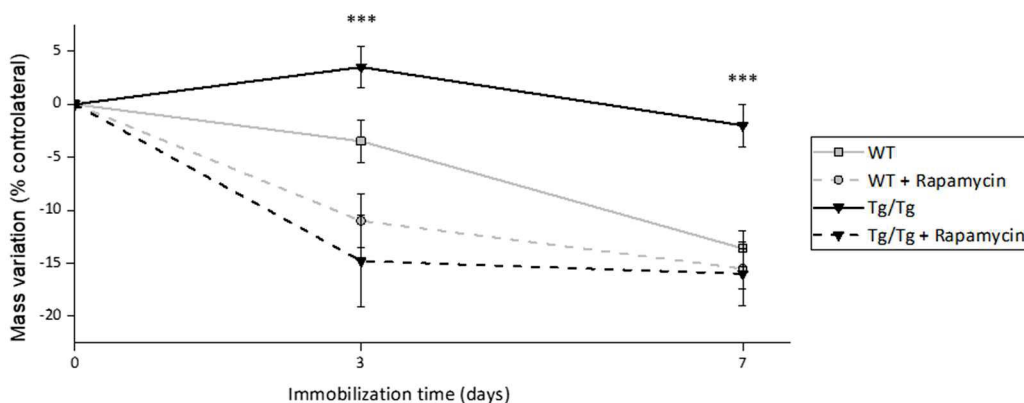


Figure 11 : Variation de masse du gastrocnémien au cours de la première semaine d'immobilisation chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) avec et sans traitement à la rapamycine. ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM. *** : $p < 0,001$

Au regard de la variation de masse du gastrocnémien pendant l'immobilisation (Figure 11), la résistance des souris transgéniques à l'atrophie induite disparaît totalement lorsqu'elles sont traitées

à la rapamycine ($p < 0,001$). Chez les souris sauvages, la perte de masse musculaire au 3^{ème} jour d'immobilisation est exacerbée par le traitement ($p < 0,05$).

L'analyse de l'ubiquitination des protéines dans les gastrocnémiens des souris soumises au protocole d'immobilisation de la patte est présentée en Figure 12. Le profil d'ubiquitination ne montre pas de différence dans le membre immobilisé quel que soit le génotype et le temps de mesure ($p > 0,05$).

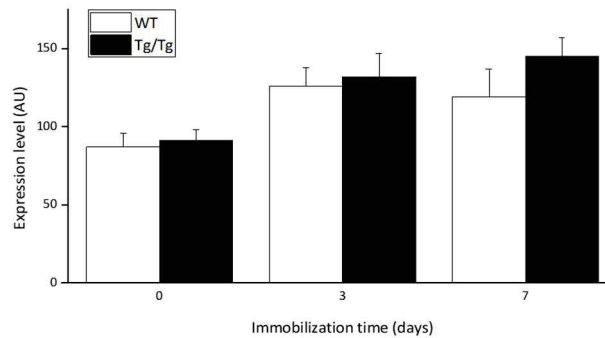


Figure 12 : Profil d'ubiquitination des protéines au cours de la première semaine d'immobilisation chez les souris double transgéniques (Tg/Tg) en comparaison aux souris sauvages (WT) ($n=8$ par génotype). Les données sont présentées en moyenne \pm SEM.

L'analyse de différents marqueurs des principales voies de dégradation protéique a été réalisée par PCR quantitative pour les gastrocnémiens des souris soumises au protocole d'immobilisation de la patte (Table 1). L'activité du système ubiquitine-protéasome et de l'autophagie dans le membre immobilisé ne montre pas de différence quel que soit le génotype et le temps de mesure ($p > 0,05$).

Real-time PCR analysis	Day 0		Day 3				Day 7			
	Non-immobilized		Control		Immobilized		Control		Immobilized	
	eIF3f ^{+/+} / Tg/Tg		eIF3f ^{+/+} / Tg/Tg		eIF3f ^{+/+} / Tg/Tg		eIF3f ^{+/+} / Tg/Tg		eIF3f ^{+/+} / Tg/Tg	
	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM	2 ^{-ΔΔCt}	SEM
Beclin 1	0,78	0,15	0,94	0,07	1,01	0,07	1,34	0,06	1,10	0,06
BNIP3	0,64	0,24	0,96	0,08	0,84	0,10	0,63	0,23	0,72	0,15
GabarapL1	0,95	0,08	1,05	0,05	0,99	0,06	0,98	0,06	1,17	0,06
Lamp2a	0,92	0,09	0,88	0,18	1,21	0,13	0,74	0,14	0,98	0,10
MAFbx	1,20	0,06	1,15	0,06	0,90	0,13	0,61	0,35	0,84	0,24
Myostatin	1,20	0,08	1,01	0,11	1,08	0,28	1,27	0,13	1,53	0,16
MuRF 1	0,93	0,09	1,08	0,21	0,85	0,21	0,55	0,33	0,68	0,45

Table 1. Analyse par PCR en temps réel de l'expression des ARNm codant pour Beclin 1, BNIP3, GabarapL1, Lamp2a, MAFbx, Myostatine and MuRF1 dans les muscles gastrocnémiens des souris sauvages et transgéniques au cours de l'immobilisation ($n=8$ par génotype). Trois réplicats de chaque réaction ont été réalisés.

Synthèse

Les souris double transgéniques (Tg/Tg) ayant intégré dans leur génome une forme mutée de eIF3f résistante à la dégradation par le système ubiquitine-protéasome sous dépendance du promoteur de l'actine squelettique humaine surexpriment la protéine recombinante eIF3f K5-10R dans les muscles squelettiques. Cette surexpression est uniquement observée dans le tissu musculaire et la protéine exogène n'est pas retrouvée dans d'autres tissus. Les souris eIF3f Tg/Tg sont viables, fertiles et présentent un phénotype normal comparé à des souris de même fond génétique. Contrairement à nos hypothèses, à l'état basal, la surexpression de la protéine eIF3f n'a pas d'impact sur le taux de synthèse protéique et l'activité de la voie MTORC1. L'ensemble de ces données suggèrent qu'en conditions normales, la surexpression de la forme mutée de eIF3f dans le muscle n'a pas d'effet sur le développement des animaux et sur l'homéostasie du tissu musculaire.

En utilisant un modèle d'immobilisation unilatérale de la patte, nous avons cherché à déterminer l'impact de la surexpression de la forme mutée de eIF3f sur les muscles en condition d'hypoactivité. L'hypoactivité induit principalement la réduction de l'activité de synthèse protéique et provoque un déséquilibre entre le taux de synthèse et le taux de dégradation protéique³⁷³. Le suivi au cours de l'immobilisation montre une atrophie progressive des muscles affectant particulièrement ceux maintenus en position raccourcie¹³⁶. Les quadriceps et les gastrocnémiens sont ainsi les muscles les plus impactés par notre modèle d'immobilisation. La diminution de la masse musculaire des gastrocnémiens et de la surface de section des fibres est ralentie chez les souris eIF3f Tg/Tg comparé aux animaux sauvages. En outre, les souris Tg/Tg présentent une résistance à l'atrophie induite au cours de la première semaine d'immobilisation. Après 7 jours, la distribution de la taille des fibres demeure normale chez les souris Tg/Tg tandis que les fibres de gros calibre sont affectées de façon importante chez les souris sauvages.

Dans cette étude et en accord avec les travaux réalisés chez les souris hétérozygotes, l'expression de eIF3f est induite dès les premiers jours d'immobilisation. L'analyse de la part de protéine endogène et exogène, portant le tag HA, impliquée dans l'induction d'expression de eIF3f majorée chez les souris Tg/Tg permettra de clarifier la régulation de l'expression de eIF3f K5-10R au cours de l'immobilisation. La surexpression de la protéine eIF3f chez les souris double transgéniques est associée à une stimulation plus importante de la synthèse protéique et à une activité plus élevée des sous effecteurs de MTORC1 tels que S6K1 et la protéine ribosomale S6. L'immobilisation de la patte ne semble en revanche pas affecter l'activité de 4EBP1, suggérant qu'en condition pro-atrophique, la protéine ne participe pas, ou peu, au maintien de la synthèse protéique. Nous avons démontré chez les souris hétérozygotes que la déplétion partielle en eIF3f diminuait l'activité de 4EBP1 dans la majorité des

muscles étudiés. Pourtant, l'élévation du niveau d'expression de eIF3f chez les souris Tg/Tg ne permet pas de promouvoir l'activation de 4EBP1. Ces données suggèrent que les mécanismes d'activation de la synthèse protéique en lien avec eIF3f diffèrent entre les principaux sous-effecteurs de MTORC1 lors de l'atrophie induite par immobilisation.

Les données issues de la littérature suggèrent que l'activité de MTORC1 est responsable de 30 à 50% du flux de synthèse protéique à l'état basal^{140,300,301}. Le traitement à la rapamycine des souris permet de discerner la part de mécanismes dépendants de la protéine mTOR et du complexe MTORC1 au cours de l'immobilisation unilatérale de la patte²²⁰. L'atrophie induite chez les animaux sauvages est exacerbée en présence du traitement à la rapamycine, indiquant qu'une part importante de l'activité de synthèse conservée au cours de l'immobilisation dépend effectivement de la protéine mTOR et du complexe MTORC1. De plus, ces résultats confirment que la résistance à l'atrophie induite observée chez les animaux double transgéniques au cours de la première semaine d'immobilisation et en l'absence de traitement à la rapamycine est principalement dépendante de cette voie cellulaire. L'activité de MTORC1 apparaît alors comme responsable d'une part majeure du flux de synthèse protéique au cours de l'immobilisation que la surexpression de eIF3f permet de favoriser.

De façon intéressante, au cours de l'immobilisation de la patte, la surexpression de eIF3f K5-10R chez les souris transgéniques ne semble pas affecter la protéolyse évaluée par le niveau de protéines ubiquitinées. La déplétion partielle en eIF3f étudiée chez les animaux hétérozygotes ne semblait pas non plus impacter les voies de dégradation majeures comme le système ubiquitine-protéasome et l'autophagie. Si d'autres marqueurs des voies de dégradation protéique doivent venir compléter ces résultats, cette étude met en évidence que la surexpression de eIF3f dans le muscle strié squelettique favorise l'activité de synthèse protéique dépendante de MTORC1 sans impacter la protéolyse et protège ainsi le muscle de l'atrophie induite par immobilisation.

Ces résultats soulignent plusieurs éléments contribuant à la compréhension des rôles de la protéine eIF3f dans la régulation de la balance protéique musculaire :

- La surexpression de la protéine eIF3f K5-10R dans le muscle squelettique n'affecte pas le développement des souris et leur phénotype à l'âge adulte.
- La surexpression de la protéine eIF3f K5-10R dans le muscle squelettique à l'état basal n'a pas d'impact sur l'activité de synthèse protéique liée à MTORC1 et à ses sous effecteurs comme S6K1 et S6.

- En condition d'immobilisation, la surexpression du transgène eIF3f K5-10R permet de résister de façon précoce à l'atrophie induite, en conservant la surface des fibres, puis d'en ralentir la progression.
- En condition d'hypoactivité, la surexpression du transgène permet une forte induction d'expression de la protéine eIF3f associée à une stimulation de la synthèse protéique et des partenaires de MTORC1.
- En condition d'immobilisation, la résistance à l'atrophie liée à eIF3f est principalement assurée par le maintien d'une activité de synthèse protéique résiduelle dépendante de MTORC1 sans affecter les principaux processus de protéolyse.

Cette dernière étude confirme que la protéine eIF3f constitue un régulateur important de la masse musculaire chez la souris. Le facteur d'initiation de la traduction eIF3f apparaît comme un élément clé de l'homéostasie du muscle strié squelettique en régulant principalement la synthèse des protéines plutôt que leur dégradation. De par son rôle dans la synthèse protéique et son statut de substrat des principales voies de dégradation, eIF3f pourrait ainsi constituer une cible thérapeutique d'intérêt pour la modulation de la synthèse protéique et le maintien de l'homéostasie musculaire.

RESUME DU CHAPITRE V

- Le facteur d'initiation de la traduction **eIF3f** permet le **développement normal** des embryons et est nécessaire à la **croissance musculaire** chez la souris.
- A l'état basal, **eIF3f** exerce un rôle fonctionnel sur la **force** et l'**endurance** des souris en impactant les **propriétés contractiles** du muscle strié squelettique, la **dépense énergétique** et l'utilisation des différents **substrats**.
- **eIF3f** a des fonctions physiologiques dans le flux de **synthèse protéique** et dans la **biogenèse des ribosomes** déterminant le **contenu protéique** et le **diamètre** des fibres musculaires dans des conditions normales.
- La protéine **eIF3f** exerce un rôle essentiel dans la **synthèse** protéique associée à **MTORC1** et régule ainsi la **balance protéique** musculaire ainsi que le maintien de l'**homéostasie** du muscle strié squelettique à l'état basal.
- L'**hypoactivité** induit l'expression de la protéine **eIF3f** qui permet de lutter contre l'**atrophie** musculaire en augmentant le flux de **synthèse protéique** par le biais de **MTORC1** et de ses sous-effecteurs comme **S6K1**.
- Le niveau d'expression de la protéine **eIF3f** à l'état basal et en condition d'hypoactivité ne semble pas avoir d'impact sur l'**activité** des principales **voies de dégradation** que sont le système **ubiquitine-protéasome** et l'**autophagie**.
- L'**inhibition** de la dégradation de eIF3f par **MAFbx** au cours de l'atrophie induite permet de conserver un **haut niveau d'expression** protéique et de maintenir une **activité** résiduelle de **synthèse protéique dépendante de MTORC1**.
- L'augmentation du **flux de synthèse** protéique permet de **résister** à la perte musculaire dans la phase **précoce** de l'immobilisation mais **ralentit** seulement la progression de l'**atrophie** induite à un stade plus **tardif**.

SYNTHESE DES COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS

- **Poster** : **Lack of eukaryotic initiation factor 3f expression promotes disuse atrophy in mouse skeletal muscle**

Laura Pavlin, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
Conférence "Exercise, locomotion and musculoskeletal system"
Lyon, France, Mai 2018

- **Poster** : **Nouvelles stratégies thérapeutiques pour le maintien de la masse musculaire.**

Laura Pavlin
Doctoriales du Collège Doctoral de Montpellier
Alès, France, Juin 2018

- **Poster** : **eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse.**

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Christelle Bertrand-Gaday, Chamroeun Sar, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
6th international congress of Myology
Bordeaux, France, Mars 2019

- **Poster** : **Overexpression of eIF3f protein protects mouse skeletal muscle from disuse atrophy during hindlimb immobilization.**

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Anthony Sanchez, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
6th international congress of Myology
Bordeaux, France, Mars 2019

- **Poster** : **eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse.**

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Christelle Bertrand-Gaday, Chamroeun Sar, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
15ème Journée de l'Ecole Doctorale des Sciences du Mouvement Humain
Marseille, France, Juin 2019

- **Poster** : **eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse.**

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Christelle Bertrand-Gaday, Chamroeun Sar, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
3rd national congress of Physiology and Integrative Biology
Montpellier, France, Juin 2019

- **Poster** : Feasibility of moderate load eccentric bed-cycling training during dialysis.

Laura Pavlin, Rauhiti Lowgreen, Florian Fernandez, Isabelle Ohresser,
Henri Bernardi, Cécile Turc-Baron, Robin Candau
3rd national congress of Physiology and Integrative Biology
Montpellier, France, Juin 2019

- **Poster** : Overexpression of eIF3f protein protects mouse skeletal muscle from disuse atrophy during hindlimb immobilization.

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Anthony Sanchez,
Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
3rd national congress of Physiology and Integrative Biology
Montpellier, France, Juin 2019

- **Poster** : Feasibility of moderate load eccentric bed-cycling training during dialysis.

Laura Pavlin, Rauhiti Lowgreen, Florian Fernandez, Isabelle Ohresser,
Henri Bernardi, Cécile Turc-Baron, Robin Candau
5th international congress in Translational Research in Human Nutrition
Clermont-Ferrand, France, Juin 2019

- **Poster** : Overexpression of eIF3f protein protects mouse skeletal muscle from disuse atrophy during hindlimb immobilization.

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Anthony Sanchez,
Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
5th international congress in Translational Research in Human Nutrition
Clermont-Ferrand, France, Juin 2019

- **Flashtalk** : Lack of eukaryotic initiation factor 3f expression promotes disuse atrophy in mouse skeletal muscle.

Laura Pavlin, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
Conférence "Exercise, locomotion and musculoskeletal system"
Lyon, France, Mai 2018

- **Communication orale** : eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse.

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Christelle Bertrand-Gaday,
Chamroeun Sar, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
5th international congress in Translational Research in Human Nutrition
Clermont-Ferrand, France, Juin 2019

- **Communication orale : eIF3f roles in development, muscle homeostasis and protein synthesis.**

Laura Pavlin, Aurélie Docquier, Audrey Raibon, Christelle Bertrand-Gaday, Chamroeun Sar, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
Journées de la Société Française de Myologie
Marseille, Novembre 2019

- **Article : eIF3f depletion impedes mouse embryonic development, reduces adult skeletal muscle mass and amplifies muscle loss during disuse.**

Aurélie Docquier, Laura Pavlin, Audrey Raibon, Christelle Bertrand-Gaday, Chamroeun Sar, Serge Leibovitch, Robin Candau, Florence Sabatier, Henri Bernardi
The Journal of Physiology, Mai 2019, doi : 10.1113/JP277841

- **Article : FAHFAs regulate the proliferation of C2C12 myoblasts and induce a shift toward a more oxidative phenotype in mouse skeletal muscle.**

Melha Benlebna, Laurence Balas, Laurence Pessemesse, Béatrice Bonafos, Gilles Fouret, Laura Pavlin, Bénédicte Goustard, Sylvie Gaillet, Thierry Durand, Charles Coudray, Christine Feillet-Coudray, François Casas
International Journal of Molecular Sciences, Novembre 2020, doi: 10.3390/ijms21239046

- **Revue : Molecular Regulation of Skeletal Muscle Growth and Organelle Biosynthesis: Practical Recommendations for Exercise Training**

Robert Solsona, Laura Pavlin*, Henri Bernardi, Anthony MJ Sanchez*
*: Equal contribution
International Journal of Molecular Sciences, Mars 2021, doi : 10.3390/ijms22052741

- **Article : Feasibility and early efficiency of bed-cycling eccentric training: potential clinical applications**

Laura Pavlin, Florian Fernandez, Rauhiti Lowgreen, Isabelle Ohresser, Jean-Paul Cristol, Cécile Turc-Baron, Henri Bernardi, Robin Candau
Soumis, European Journal of Applied Physiology, Février 2021

- **Article : Does the interference phenomenon affect strength development during same-session combined rehabilitation program in hemodialysis patients?**

Laura Pavlin, Annie Rodriguez, Isabelle Ohresser, Martin Larivière, Cyril Portal, Jean-Paul Cristol, Henri Bernardi, Cécile Turc-Baron, Robin Candau
Soumis, Seminars in Dialysis, Mars 2021

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La dérégulation de la balance protéique qui conduit à l'atrophie musculaire au cours de l'hypoactivité provient principalement d'un défaut de synthèse protéique chez l'animal, alors que les principales voies de dégradation sont peu affectées. Dans le modèle animal d'insuffisance rénale, le déséquilibre de la balance protéique se traduit par un flux de synthèse protéique inférieur au taux de dégradation, menant à terme à l'atrophie musculaire²⁶⁹. Chez le patient, la dysfonction musculaire associée à l'insuffisance rénale chronique terminale implique à la fois la sédentarité des patients, leur état urémique, les désordres métaboliques, l'inflammation et la présence de neuropathies^{67,92,133,243,335,424,442}. S'il est difficile de discerner l'implication de chacun de ces facteurs, il est en revanche établi que leur combinaison chez le patient mène à la réduction importante (-27%) de l'activité de synthèse protéique en comparaison avec des sujets sains⁶.

Le développement de nombreux modèles animaux non transgéniques d'IRC a permis de mieux comprendre les mécanismes à l'origine de la dysfonction musculaire chez le patient insuffisant rénal³³⁴. Parmi les modèles animaux non chirurgicaux, l'insuffisance rénale est généralement induite par des agents chimiques possédant un effet toxique sur différents composants du système rénal³³⁴. Les agents comme la cisplatine, l'acide aristocholique, l'adriamycine, l'acide folique, l'adénine, la streptozotocine ou encore le glycérol ont des propriétés néphrotoxiques et sont utilisés chez le rongeur³³⁴. Le modèle combinant l'excision d'un rein et l'induction d'une hypertension est utilisé chez l'animal mais le modèle chirurgical le plus répandu reste la néphrectomie au 5/6^{ème}³³⁴. L'obstruction unilatérale de l'uretère et l'ischémie-reperfusion par clamp des artères rénales conduisent aussi à une insuffisance rénale et ont l'avantage d'être réversibles³³⁴.

L'induction non génétique de l'insuffisance rénale chez l'animal se révèle ainsi extrême et la transposition des résultats obtenus sur ces modèles expérimentaux, demeurant peu physiologiques, reste délicate. En France, le développement de l'insuffisance rénale chez l'Homme est principalement causé par l'hypertension artérielle (23% des cas), le diabète (22% des cas) et par une glomérulonéphrite primitive (14% des cas)³⁴². Dans la plupart des cas, l'insuffisance rénale évolue lentement avant de présenter un stade terminal s'accompagnant d'une dysfonction musculaire importante. Toutefois, la dysfonction musculaire du patient IRCT, d'origine multifactorielle, s'installe progressivement et de nombreux facteurs impliqués dans l'induction de l'atrophie sont retrouvés dans la plupart de ces modèles animaux.

Chez le patient atteint d'IRCT, il apparaît que l'acidose induit l'augmentation de la dégradation des protéines et de l'oxydation de la leucine^{344,442}. L'acidose métabolique observée dans les modèles expérimentaux d'IRC apparaît comme à l'origine d'une activation de la dégradation protéique sans retentir de façon majeure sur le flux de synthèse²⁷⁶. L'administration d'un tampon bicarbonate corrigeant l'acidose permet de diminuer l'activité catabolique et d'augmenter légèrement le flux de synthèse, suggérant que l'acidose induit principalement une activation du catabolisme plutôt qu'une inhibition de l'anabolisme musculaire³³⁸.

Chez le patient IRCT, l'acidose métabolique apparaît associée à une production endogène de glucocorticoïdes à des taux élevés³⁴⁴. Chez le modèle animal d'IRC, la présence simultanée de l'acidose et d'un taux élevé de glucocorticoïdes induit l'activation du système ubiquitine-protéasome²⁶⁸. L'élévation importante des niveaux de glucocorticoïdes peut permettre l'activation de FoxO1 en inhibant la signalisation dépendante de PI3K⁷⁷. Dans le modèle animal, la suppression de la signalisation associée à la voie PI3K/Akt/mTOR est associée à une résistance à l'insuline et à la stimulation du système ubiquitine-protéasome et de l'autophagie, menant à l'atrophie musculaire⁴⁴². Ces résultats suggèrent qu'un défaut de réponse à l'insuline, potentiellement médié par l'acidose métabolique, pourrait contribuer au développement de la dysfonction musculaire³⁴⁴. L'acidose métabolique semble ainsi exercer un rôle indirect dans l'induction de la protéolyse par l'intermédiaire des glucocorticoïdes et de la résistance à l'insuline, favorisant l'activation du catabolisme et inhibant la synthèse protéique.

D'autres mécanismes pourraient intervenir dans la diminution du taux de synthèse protéique dépendant de la voie PI3K/Akt/mTOR. Par exemple, l'IRC est associée à une augmentation de l'expression de SIRP α (Signal Regulatory Protein α) diminuant l'activité des récepteurs à l'insuline et de son substrat, la protéine adaptatrice IRS1, provoquant une insulino-résistance⁴²³. SIRP α est principalement exprimée dans les membranes des cellules musculaires, ce qui lui permet d'interagir avec les récepteurs à l'insuline et IRS1⁴²³. Il a été montré chez l'animal que l'expression de SIRP α est induite en réponse aux cytokines inflammatoires par l'intermédiaire de la voie associée à NF κ B⁴²³. La surexpression de SIRP α induit alors l'activation du système ubiquitine-protéasome et inhibe la phosphorylation d'Akt⁴²³. Il est à noter que la suppression de la signalisation associée à NF κ B par un inhibiteur de IKK β permet de réduire l'expression de SIRP α médiée par les cytokines inflammatoires et d'empêcher la stimulation du catabolisme⁴²³. L'utilisation du MG132 ou du Velcade pourrait alors s'avérer intéressante chez le patient IRCT pour améliorer la sensibilité à l'insuline²¹⁵.

Par ailleurs, une toxine urémique, le p-cresyl-sulfate, pourrait jouer un rôle délétère sur le remodelage du muscle en favorisant aussi la résistance à l'insuline²⁰⁸. De même, parmi les toxines urémiques

identifiées, l'indoxyl-sulfate s'accumule chez le patient hémodialysé et participe à l'installation d'une atrophie musculaire en induisant un stress oxydant, une surexpression de MAFbx et de la myostatine¹¹², et altérant par ailleurs l'angiogenèse³⁶⁶. Il est à noter qu'un soutien nutritionnel adapté permet de diminuer les taux circulants de ces toxines urémiques³⁵⁹. L'accumulation des toxines urémiques est associée à la dysfonction mitochondriale observée chez le patient IRC, affectant à la fois la biogenèse et la respiration mitochondriale menant à la production d'un stress oxydant capable d'induire l'activation de la protéolyse⁴²⁴.

L'altération de la production d'ATP par la mitochondrie participe à l'intolérance à l'effort du patient IRC par réduction de la quantité d'énergie mobilisable dans la cellule musculaire⁴²⁴. La diminution de la biodisponibilité en ATP induit un stress énergétique pouvant conduire à l'activation de la voie AMPK et à l'expression de FoxO3 inhibant la synthèse protéique⁴²⁴. Les données relatives au stress oxydant et à la fuite de protons de la mitochondrie suggèrent que la production de ROS par la mitochondrie n'est pas la cause de l'atrophie musculaire associée à l'IRCT⁴²⁴. En revanche, l'accumulation des toxines urémiques pourrait conduire à la production de ROS indépendamment de la mitochondrie et perturber l'équilibre entre espèces oxydantes et antioxydantes participant à la réduction de la synthèse protéique associée à l'IRCT⁴²⁴.

L'élévation du stress oxydant semble favoriser l'augmentation des cytokines inflammatoires chez le patient IRC³³⁵. L'inflammation se traduit entre autres par une élévation des niveaux circulants de TNF α et de IL-6 (interleukine-6) chez le patient atteint d'IRC⁴⁴². La sécrétion de cytokines inflammatoires est induite lors de la dialyse, et le muscle strié squelettique est par ailleurs capable de libérer l'interleukine-6³³⁵. La concentration en TNF α augmente au fur et à mesure de la progression de l'insuffisance rénale, les patients dialysés présentant les taux les plus élevés²¹⁰. L'augmentation des signaux pro-inflammatoires chez le patient IRC mène à la stimulation des processus de dégradation par l'induction de la voie NF κ B et l'activation du système ubiquitine-protéasome concomitamment à l'inhibition de la voie PI3K/Akt/mTOR^{406,442}. L'inflammation et le stress oxydant coexistant chez le patient IRC semblent jouer un rôle dans la dysfonction musculaire et constituent une cible d'intervention potentielle³³⁵.

Par ailleurs, la dysfonction du système rénine-angiotensine présente dans l'IRC contribue à l'activation des caspases, et particulièrement de la caspase-3, menant au clivage de l'actine au sein des sarcomères dans le muscle strié squelettique⁴⁰⁶. La caspase-3 pourrait aussi provoquer l'activation de la dégradation protéique en clivant deux sous-unités ATPases du protéasome, comme il a été démontré *in vitro*⁷⁷ et *in vivo*⁴⁴³. L'implication de l'apoptose dans l'atrophie musculaire du patient IRC reste cependant à éclaircir. Il est en revanche établi que l'angiotensine II contribue à la perte de masse musculaire en diminuant les taux circulants de IGF-1 et en activant la voie des TGF β ⁴⁰⁶. L'activation de

cette signalisation cellulaire se traduit par une augmentation de l'expression de la myostatine tandis que l'expression de la follistatine apparait seulement altérée chez des patients présentant une inflammation et un remodelage musculaire très importants⁴⁰⁶.

Plus récemment, Zhang et al. ont démontré que l'expression de la protéine nucléolaire 66 (NO66), induite par l'IRC, est impliquée dans l'atrophie musculaire à la fois chez l'animal et le patient⁴⁶². Dans leur étude, la délétion de cette protéine est associée au maintien de la biogenèse des ribosomes, de l'activité de synthèse protéique et finalement de la masse musculaire dans le modèle animal d'IRC⁴⁶². NO66 possède une activité d'histone déacétylase permettant de réprimer l'expression de certains gènes⁴⁶². Dans le muscle de la souris IRC, son expression induit la suppression par déméthylation de la transcription de l'ADN ribosomique, inhibant consécutivement la synthèse protéique⁴⁶². La compréhension des mécanismes régulant l'expression de la protéine nucléolaire 66, impliquant les cytokines inflammatoires ainsi que NFκB, pourrait donner une nouvelle dimension aux mécanismes épigénétiques altérant la synthèse protéique lors du remodelage musculaire chez le patient IRC^{331,462}.

L'ensemble de ces données permet d'établir un ensemble de causes dont la combinaison chez le patient mène à la diminution du flux de synthèse et à l'augmentation de la protéolyse observées dans l'IRCT. Le maintien de l'activité de synthèse protéique et l'inhibition des voies de dégradation apparaissent ainsi comme des éléments déterminant la résistance du muscle strié squelettique à l'atrophie induite par différents facteurs environnementaux. Dans le modèle animal d'IRC, la seule stimulation de la voie PI3K/Akt par l'exercice en endurance ou la surcharge mécanique permet de rééquilibrer la balance protéique musculaire et de diminuer la réponse atrophique du muscle⁴⁴¹.

L'exercice, et particulièrement l'exercice chronique, est le plus puissant modulateur de la synthèse protéique menant à l'hypertrophie et permet aussi des améliorations de la fonction mitochondriale et la réduction du stress oxydant⁴⁰². Chez le rat atteint d'IRC, l'exercice en résistance permet d'augmenter l'expression de IGF-1, de son substrat IRS1, de PI3K et de l'activité de Akt⁴⁴². Chez le patient dialysé, une seule session d'exercice en résistance permet de stimuler la synthèse protéique, et pratiqué de façon chronique, ce type d'entraînement est associé à une amélioration de l'anabolisme protéique tandis que les processus de protéolyse sont inhibés⁴⁴². L'exercice en résistance induit l'activation de la signalisation dépendante de MTORC1, augmentant l'activité de S6K1 et rpS6 ainsi que l'inhibition des voies de dégradation⁴⁰². En outre, l'entraînement en résistance semble améliorer le statut inflammatoire des patients IRC en diminuant les taux circulants de IL-6⁴⁰⁶.

La réponse anabolique associée à MTORC1 tend à s'éteindre au cours de l'entraînement et les mécanismes sous-jacents de cette diminution restent à explorer⁴⁰². L'avancée en âge est aussi associée à une diminution de la biogenèse des ribosomes pouvant diminuer l'amplitude des adaptations

induites par l'entraînement en résistance⁴⁰². De la même façon, la réponse anabolique dans le cadre de l'IRC semble diminuée, les souris présentant une diminution des niveaux d'activation de mTOR et de son effecteur S6K1 en comparaison avec des animaux sains après un exercice⁴⁴². Chez la souris atteinte d'IRC, l'exercice en endurance permet alors d'inhiber les voies de dégradation mais ne parvient pas à restaurer l'activité de synthèse protéique⁴⁴¹.

Si l'entraînement combiné permet de meilleures améliorations de la fonction musculaire des populations déconditionnées comparé à de l'exercice en résistance ou en endurance seul, les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent ces adaptations restent méconnus et ont principalement été étudiés chez l'athlète pour comprendre l'effet d'interférence. Les adaptations cellulaires à l'exercice en endurance comprennent principalement une augmentation de la biogenèse et de la fonction mitochondriale³⁸⁷. PGC1 α semble être un acteur majeur dans cette réponse du muscle strié squelettique à l'exercice en endurance et il apparaît que différents mécanismes peuvent réguler sa transcription, dont les voies associées à MTORC1 et à AMPK³⁸⁷. La transcription de PGC1 α est induite par l'entraînement combiné de façon similaire à un entraînement en endurance³⁸⁷. L'activation de MTORC1 et de ses substrats en réponse à l'exercice combiné ne semble pas différer d'un entraînement en résistance seul³⁸⁷. Ces résultats suggèrent qu'en l'absence d'un effet d'interférence, les adaptations à l'exercice combiné cumulent les bénéfices des adaptations spécifiques à chaque type d'entraînement.

D'autres interventions utilisant l'acupuncture ou la stimulation électrique ont rapporté des résultats prometteurs en limitant l'atrophie musculaire sur l'animal. Ces thérapies alternatives à l'exercice permettent d'augmenter les niveaux de IGF-1 et d'inhiber l'expression de la myostatine^{175,303}. L'inhibition de la myostatine par injection d'anticorps spécifiques, comme il a été testée chez la personne âgée sarcopénique, a fait l'objet de plusieurs études sur des modèles animaux d'IRC⁴⁴². Il en résulte une augmentation de la masse musculaire associée à une stimulation de la voie PI3K/Akt sans que la fonction musculaire n'ait été analysée⁴⁴². L'inhibition de la myostatine permet aussi de diminuer les niveaux circulants de TNF α et de IL-6⁴⁶³. De la même façon, des traitements basés sur l'inhibition de l'activine A pourraient stimuler l'activité de synthèse protéique et être efficaces dans le cadre de la dysfonction musculaire associée à l'IRCT.

Par ailleurs, les mécanismes complets de la voie des MAPK restent à établir et la part du flux de synthèse assurée par cette voie cellulaire est méconnue. L'activation de ERK1/2 régule aussi l'expression de PGC1 α , acteur majeur de la biogenèse mitochondriale, dans le muscle strié squelettique¹²⁷. L'activité de synthèse protéique induite par la voie des MAPK, en partie indépendamment de mTOR, est stimulée par l'exercice en résistance mais l'exercice excentrique pourrait mener à une activation optimale¹³⁰. S'il convient de mieux comprendre l'implication de la voie

des MAPK dans la régulation de la balance protéique musculaire, la pratique de l'exercice excentrique pourrait présenter un autre intérêt particulier dans le reconditionnement musculaire de la personne âgée, du patient hémodialysé, du patient intolérant à l'effort ou du patient présentant des limitations cardiorespiratoires à l'exercice.

L'ensemble de ces données suggère que la résistance à l'insuline et le stress oxydant sont les mécanismes majeurs à l'origine de la diminution de l'activité de synthèse protéique dépendante de l'axe PI3K/Akt/mTOR et de l'activation des différentes voies de la protéolyse menant à la dysfonction musculaire du patient hémodialysé. L'analyse des réponses à l'exercice dans le cadre de cette pathologie laisse entrevoir que la stimulation de la voie PI3K/Akt induite de façon importante par l'exercice en résistance à intensité modérée pourrait parvenir à restaurer la sensibilité à l'insuline et à diminuer l'inflammation, favorisant l'augmentation du flux de synthèse protéique et permettant de surcroît d'inhiber certains acteurs de la dégradation protéique. Ensuite, l'entraînement en endurance chronique favorise la diminution du stress oxydant, limitant consécutivement les processus inflammatoires et améliorant la fonction mitochondriale. Il apparaît alors que l'exercice chronique combinant résistance et endurance représente la meilleure stratégie pour parvenir à rééquilibrer la balance protéique musculaire altérée par le déconditionnement du patient hémodialysé. En activant la synthèse protéique associée à mTORC1 et en diminuant simultanément l'activité des voies de dégradation associées au système ubiquitine-protéasome et à l'autophagie, l'exercice combiné permet l'amélioration notable des capacités fonctionnelles des patients hémodialysés présentant une dysfonction musculaire.

Nos résultats suggèrent qu'une durée de reconditionnement de 16 semaines n'induit pas de phénomène d'interférence qui, chez les athlètes, commence à se manifester après 8 à 10 semaines d'entraînement à charges élevées. Ces charges d'entraînement sont nécessairement modestes chez le patient hémodialysé pratiquant l'exercice per dialytique en position allitée, et il semble que l'intensité ou la durée des stimuli à dominante aérobie ne limite pas la réponse du tissu musculaire aux exercices de force dans ce contexte. Ainsi, notre étude suggère qu'il est possible de pratiquer les exercices d'endurance et de résistance au cours de chaque séance de réentraînement. Cette façon d'introduire une diversité d'exercices à l'intérieur même de chaque séance de réhabilitation permet de rompre la monotonie de la dialyse, renforce l'intérêt pour l'exercice et semble augmenter l'adhésion au programme de réentraînement sans nuire au développement de la force des membres inférieurs et supérieurs.

L'intervention par l'exercice chez le patient hémodialysé, pour être optimale, devrait intégrer la correction de l'acidose métabolique permettant de diminuer l'activité de dégradation et la résistance à l'insuline. La combinaison de ces interventions avec des inhibiteurs de la myostatine pourrait aussi

avoir un intérêt en tant que stratégie thérapeutique de la dysfonction musculaire du patient hémodialysé. La supplémentation nutritionnelle en fibres chez le patient insuffisant rénal chronique pourrait également jouer un rôle important lors du reconditionnement, en exerçant un effet anti-inflammatoire, en augmentant la disponibilité en acides aminés et en diminuant les taux plasmatiques de créatinine et de toxines urémiques comme l'indoxyl-sulfate et le p-cresyl-sulfate.

Il apparaît que le patient hémodialysé présente à la fois une altération du microbiote intestinal et une perméabilité de la barrière intestinale augmentée pouvant participer à un état inflammatoire chronique³⁵⁹. La dérégulation du milieu intérieur perturbe la structure et la fonction gastro-intestinale, de même que l'équilibre du microbiote, sa richesse et sa diversité, altérant l'intégrité de la barrière épithéliale de l'intestin, augmentant ainsi la perméabilité et favorisant la translocation des toxines de l'intestin vers la circulation³⁵⁹. Les toxines urémiques altèrent également le milieu intestinal en favorisant la croissance de certaines souches bactériennes exprimant des enzymes de formation d'indole et de p-cresol³⁵⁹. La fermentation de certains acides aminés par le microbiote intestinal génère alors des quantités importantes de p-cresyl sulfate et d'indoxyl sulfate³⁵⁹. De même, il apparaît qu'un dialogue existe entre le microbiote et le muscle strié squelettique, et il n'est donc pas à exclure qu'une part de la dysfonction musculaire du patient IRCT ait un lien avec cette dysbiose²⁹³. La restauration de l'équilibre du microbiote par des pré- et probiotiques pourrait alors constituer une cible d'intervention pour limiter la production de toxines urémiques.

Enfin, si la dysfonction musculaire constitue une problématique majeure de la qualité de vie et du devenir du patient hémodialysé, il n'est pas à oublier que la mortalité dans cette population est principalement d'origine cardiovasculaire. La dysfonction du muscle cardiaque des patients hémodialysés provient en partie des conséquences directes de l'IRCT, comme l'inflammation systémique et l'hypertension, et se manifeste par une fibrose du ventricule gauche, une hypertrophie-dilatation cavitaire, ainsi qu'une dysfonction diastolique et/ou systolique¹⁷⁶. L'hémodialyse semble également impliquée dans ce remodelage délétère, en induisant des changements hémodynamiques brutaux conduisant à des épisodes d'hypotension répétés¹⁷⁶. Ces perturbations hémodynamiques entraînent une hypoperfusion systémique touchant de multiples organes dont le cœur¹⁷⁶. La répétition de ces épisodes ischémiques, liée aux multiples séances hebdomadaires d'HD, pourrait être délétère à long terme, favorisant également la fibrose, l'hypertrophie et la raideur diastolique du ventricule gauche, accentuant le remodelage myocardique pathologique et conduisant ainsi progressivement le patient vers l'insuffisance cardiaque¹⁷⁶.

Les approches médicamenteuses sont souvent insuffisantes pour parvenir à stabiliser la tension au cours de la procédure d'hémodialyse et l'exercice aigu est reconnu pour augmenter le débit cardiaque et la pression artérielle, améliorant consécutivement la perfusion coronarienne²⁷⁰. La pratique

d'activité physique per dialytique pourrait alors limiter les perturbations hémodynamiques liées à l'hémodialyse et consécutivement être bénéfique pour la fonction régionale myocardique et la perfusion coronaire²⁷⁰. Cette approche de l'effet cardioprotecteur de l'exercice en dialyse a fait l'objet d'une étude conduite avec le Professeur P. Obert et le Docteur C. Maufrais de l'Université d'Avignon. Les premiers résultats confirment l'effet cardioprotecteur de l'exercice per dialytique aigu et une seconde étude sur les effets de l'exercice per dialytique aigu et chronique est en cours.

Dans la recherche de cibles thérapeutiques de l'atrophie musculaire, les résultats obtenus sur modèles animaux indiquent que la protéine eIF3f, au carrefour des voies majeures de synthèse et de dégradation, joue un rôle important dans la balance protéique *in vivo* à la fois au cours du développement et dans l'homéostasie du muscle à l'âge adulte. Chez l'animal, l'étude des rôles de eIF3f permet de mettre en lumière une fonction essentielle de ce facteur au cours du développement embryonnaire. Pour l'heure, les mécanismes impliqués dans la létalité précoce des souris invalidées pour eIF3f ne sont pas connus, ils pourraient impliquer d'autres fonctions de eIF3f comme la stabilisation du complexe eIF3 ou une interaction avec la voie de signalisation cellulaire Notch, nécessaire au développement des embryons après leur implantation^{284,402}.

En favorisant l'interaction de MTORC1 avec ses effecteurs comme S6K1, l'expression de eIF3f est aussi nécessaire à l'initiation de la synthèse protéique dépendante de MTORC1 dans le muscle strié squelettique adulte en conditions normales. De façon intéressante, MTORC1 et eIF3f migrent tous deux vers la périphérie cellulaire après un exercice en résistance, suggérant que la protéine eIF3f exerce un rôle dans l'activation des substrats de MTORC1 en réponse à une contrainte mécanique¹⁶⁹. Si à l'état basal, la surexpression de eIF3f dans le modèle transgénique n'a pas d'impact sur le flux de synthèse protéique, on ne peut exclure une majoration de la réponse à l'exercice en résistance sur l'activité de la voie PI3K/Akt/mTOR associée à la quantité de eIF3f exprimée. Il sera alors intéressant d'analyser la réponse hypertrophique du muscle chez les souris transgéniques soumises à un entraînement, mais aussi l'expression de différents marqueurs des voies de synthèse et de dégradation afin de distinguer si la surexpression de eIF3f dans ce contexte donne lieu à des rétrocontrôles sur différentes voies de signalisation cellulaires. Il sera aussi d'intérêt d'étudier la co-localisation de eIF3f et eIF3f K5-10R avec mTOR en réponse à différents types d'exercice et plusieurs niveaux d'intensité chez nos deux modèles animaux. *In vitro*, il semble que la localisation et la migration de la protéine exogène eIF3f K5-10R ne diffèrent pas de la forme endogène de eIF3f, suggérant que les fonctions physiologiques de la forme mutée sont similaires à celles de la forme sauvage²⁵⁷.

La réponse anabolique à l'exercice en résistance dépendante de MTORC1, de même que la biogenèse des ribosomes, diminuent lors de l'avancée en âge chez l'Homme et l'animal. La quantification des niveaux d'expression de eIF3f dans nos modèles animaux permettrait de proposer un rôle de ce facteur

notamment dans l'interaction entre MTORC1 et S6K1 et la régulation de la synthèse protéique au cours du vieillissement. De même, le profilage des polysomes pourra être réalisé sur des souris plus âgées pour observer l'évolution de la capacité de traduction protéique et de son efficacité lors de l'avancée en âge. Chez les souris hétérozygotes, on ne peut exclure que la baisse de la capacité de traduction et son efficacité ne s'aggrave d'autant plus avec le temps, diminuant l'activité de synthèse déjà altérée chez des animaux jeunes.

Chez l'animal, la surexpression de eIF3f permet l'activation du flux de synthèse dépendant de MTORC1 en condition pro-atrophique et protège le muscle contre la diminution de son contenu protéique et de la taille des fibres principalement en conservant une activation persistante de S6K1 et rpS6. Si pour l'heure, le partenariat entre eIF3f et MTORC1 est un acteur majeur dans l'initiation de la synthèse protéique, une implication de eIF3f au sein d'autres voies cellulaires n'est pas à écarter. Des études préliminaires au laboratoire effectuées sur des cellules satellites surexprimant eIF3f ont montré des phosphorylations différentielles de nombreux substrats et notamment ceux appartenant à la voie des MAPK. Ainsi, la voie des MAPK pourrait être impactée par l'expression de eIF3f et mener à l'activation de MTORC1 par l'intermédiaire de la phosphorylation de TSC2 sans invoquer la cascade de signalisation associée à PI3K/Akt. Ensuite, la synthèse du PA, assurée par la phospholipase D et la voie des DAG kinases, mène à l'activation de MTORC1 par compétition avec son inhibiteur FKBP38 (FK506 binding protein 38). Récemment, il a été mis en évidence que l'induction de l'expression de eIF3f par l'augmentation de la contrainte mécanique était supprimée chez les souris invalidées pour un isoforme de DAG kinase. Il est donc probable qu'une interaction de eIF3f avec la voie du DAG permette l'initiation de la synthèse protéique *via* MTORC1 par l'accumulation de PA et donc indépendamment de l'axe PI3K/Akt.

Au regard de la réduction du flux de synthèse induite par la déplétion partielle en eIF3f, ce facteur d'initiation de la traduction pourrait aussi jouer un rôle dans l'initiation de la synthèse protéique indépendante du complexe MTORC1. Parmi les deux sous-effecteurs de MTORC1, la protéine ribosomique S6 peut aussi être activée par des mécanismes indépendants du complexe MTORC1, comme par l'intermédiaire de la voie des MAPK et de la protéine p90. Ainsi, l'hypothèse d'un lien entre eIF3f et une activation directe des sous effecteurs de MTORC1 sans implication de l'axe PI3K/Akt/mTOR sera à vérifier. Il sera alors intéressant d'étudier sur nos modèles animaux si l'expression de eIF3f module l'initiation de la synthèse protéique en interagissant avec d'autres partenaires impliqués dans des voies de signalisation cellulaires parallèles à l'axe PI3K/Akt/mTOR.

Nos travaux sur le transgène eIF3f K5-10R valide l'efficacité de la surexpression de eIF3f pour induire l'activation de la synthèse protéique dépendante de MTORC1 *in vivo*. Si d'autres marqueurs doivent être analysés, cette activation de la traduction protéique apparaît comme indépendante de toute

modification de l'activité de protéolyse assurée par le système ubiquitine protéasome et l'autophagie. Ces données suggèrent qu'il n'existe pas de rétrocontrôle important sur les voies de dégradation induit par la surexpression de eIF3f ou l'augmentation de l'activité de MTORC1 et de ses sous-effecteurs. Nos résultats démontrent aussi que l'induction de l'activité de synthèse protéique par eIF3f a lieu de façon spécifique dans le muscle strié squelettique, confirmant que eIF3f possède des fonctions particulières dans ce tissu à l'âge adulte, probablement en lien avec des partenaires spécifiques de ce type cellulaire.

De façon intrigante, le facteur d'initiation de la traduction eIF3f a un tout autre rôle dans les cellules en prolifération. Dans les cellules cancéreuses, les myoblastes C2C12 et les cellules satellites en prolifération, la surexpression de eIF3f inhibe la synthèse protéique et la prolifération cellulaire. L'existence de partenaires spécifiques au type cellulaire et à l'état prolifératif ou différencié pourrait expliquer l'ambivalence de ce facteur d'initiation de la traduction. L'analyse transcriptomique réalisée précédemment au laboratoire sur des myoblastes et myotubes C2C12 surexprimant ou non eIF3f montre que la variété des transcrits recrutés est dépendante non seulement de l'état prolifératif ou différencié des cellules mais également du niveau d'expression de eIF3f. Ainsi, la surexpression de eIF3f modifie le recrutement de différents ARNm codant pour des protéines impliquées dans les voies de signalisation cellulaires, dans le cycle cellulaire et dans le métabolisme. Par ailleurs, le profilage des polysomes a révélé l'existence de séquences communes spécifiques de l'état cellulaire dans les parties non codantes de certains ARNm associés à eIF3f, suggérant un rôle de ce facteur dans la sélection des ARNm à traduire et la régulation traductionnelle.

L'étude des profils transcriptomiques et des complexes protéiques associés à eIF3f sur différents types cellulaires permettrait d'identifier les mécanismes moléculaires d'action de eIF3f sur la spécificité et l'efficacité traductionnelle. Dans des cellules cancéreuses où l'expression de eIF3f est inhibée, l'utilisation d'une thérapie protéique permettant d'augmenter les niveaux d'expression de eIF3f limite l'activité de synthèse et induit l'apoptose de ces cellules en état de prolifération²⁵⁷. La transduction de eIF3f à l'intérieur des cellules grâce à la présence d'un peptide Zebra pourrait constituer une alternative prometteuse à la thérapie génique pour le traitement des pathologies cancéreuses²⁵⁷.

Nos résultats ayant confirmé que l'expression d'une protéine eIF3f exogène est active sur la synthèse protéique dans le muscle strié squelettique *in vivo*, la transduction de eIF3f pourrait être efficace pour lutter contre l'atrophie musculaire dans le cadre du déconditionnement. En tirant profit de la spécificité des fonctions de eIF3f dans ce type cellulaire, cette stratégie pourrait mener à l'augmentation du flux de synthèse uniquement sous l'effet d'un stress, dans les cellules musculaires différenciées et non prolifératives, et donc ne pas générer d'effets secondaires tels que la croissance tumorale comme il a été observé avec d'autres stratégies d'activation de l'anabolisme protéique. Si la surexpression de eIF3f constitue une option thérapeutique dans la lutte contre l'atrophie musculaire,

sa propriété de substrat de l'atrogène musculaire MAFbx offre une autre approche thérapeutique sélective intéressante. En effet, la découverte d'agents pharmacologiques ou de petites molécules inhibitrices comme les haptènes qui empêcheraient spécifiquement l'interaction entre MAFbx et eIF3f ou qui inhiberaient l'ubiquitination des substrats de MAFbx aurait des retombées positives pour le traitement de patients souffrant d'une atrophie musculaire. Dans ce sens, il serait d'intérêt de faire appel à la technique BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer) lors d'un criblage d'inhibiteurs pour discerner l'effet d'un traitement sur les interactions entre MAFbx et ses partenaires.

Les travaux présentés dans ce manuscrit de thèse se sont focalisés sur les rôles de eIF3f dans les cellules musculaires différenciées au cours de l'atrophie musculaire induite par l'hypoactivité où l'intégrité du muscle est conservée. Chez nos modèles animaux, l'étude des effets du niveau d'expression de eIF3f sur le comportement des cellules satellites, non différenciées et capables de proliférer, fait partie des travaux à réaliser. Les résultats préliminaires obtenus au laboratoire montrent que la surexpression de eIF3f K5-10R octroie au muscle de meilleures capacités de régénération suite à une lésion par injection de cardiotoxine. Si ce modèle de lésion musculaire apparaît comme extrême, on sait aussi que l'exercice en endurance, tout comme l'exercice excentrique, peuvent être dommageables pour l'intégrité du tissu musculaire lorsqu'ils sont pratiqués à haute intensité et induire l'activation des cellules satellites. Dans ce type cellulaire mobilisé lors du repeuplement de la fibre musculaire lésée, eIF3f pourrait détenir un rôle important dans la progression du programme myogénique menant à la fusion des cellules satellites pour parvenir à la régénération des fibres musculaires endommagées.

Les cellules satellites sont également impliquées lors de l'hypertrophie induite par l'exercice en résistance sans qu'il n'y ait de lésion musculaire. Après leur activation, leur prolifération et leur différenciation, la fusion des cellules satellites permet l'ajout de nouveaux noyaux et de volume cytoplasmique dans le syncytium des fibres existantes. Une seule session d'exercice est suffisante pour entraîner l'activation des cellules satellites, et, à contrario, l'inactivité diminue leur prolifération. Les cellules satellites semblent jouer un rôle dans la réponse anabolique induite par l'entraînement en résistance menant à l'hypertrophie des fibres. Si les mécanismes permettant l'activation des cellules satellites lors de la réponse hypertrophique à différents stimuli restent à établir, la voie associée à MTORC1 apparaît impliquée dans la différenciation des cellules satellites lors de la croissance musculaire. Il conviendra alors d'établir les effets du niveau d'expression de eIF3f sur l'activation des cellules satellites, le déroulement du programme myogénique et *in fine*, sur l'ajout de nouveaux noyaux dans les fibres musculaires existantes lors de la réponse hypertrophique induite chez nos modèles animaux afin de mieux cerner les rôles de eIF3f sur le maintien de l'homéostasie musculaire.

CONCLUSION

L'homéostasie du muscle strié squelettique apparaît comme un enjeu contemporain majeur et la compréhension des mécanismes de sa régulation est nécessaire au développement de stratégies thérapeutiques efficaces contre le déconditionnement musculaire. Dans ce sens, les différents résultats obtenus au cours de ce travail de thèse apportent un regard nouveau sur le maintien de la fonction musculaire. L'intégrité d'une croissance musculaire coordonnée permet le développement d'un tissu musculaire parfaitement fonctionnel à l'âge adulte, capable de se régénérer et de s'adapter idéalement au milieu qui l'entoure. Cet état d'équilibre est obtenu par la juste régulation de l'activité de synthèse et de dégradation protéique modulant le contenu et donc la taille des fibres musculaires. Les mécanismes assurant la synthèse et la dégradation protéique sont des processus finement régulés, communicant sans cesse entre eux, et sensibles à différents facteurs environnementaux.

L'activité physique apparaît comme un des facteurs déterminants de cet équilibre entre synthèse et dégradation, et la sédentarité est ainsi à l'origine d'un déséquilibre de la balance protéique conduisant à un remodelage important du tissu musculaire. Dans le cadre de pathologies chroniques, ce déconditionnement conduit à une diminution importante des aptitudes fonctionnelles et altère la qualité de vie des patients. De nombreux mécanismes, sans doute intimement liés les uns aux autres, participent à l'installation de l'atrophie musculaire chez le patient insuffisant rénal chronique. Si pour l'heure, d'autres travaux sont nécessaires à la compréhension des origines de ces perturbations et de leurs liens mutuels, il est établi que leur combinaison chez le patient mène, *in fine*, à la réduction de la synthèse protéique ne contrebalançant plus le taux de dégradation.

La réhabilitation perdiaalytique combinant exercices à dominante de résistance et exercices de type aérobie favorise l'acceptabilité et l'adhésion des patients dialysés et apparaît comme optimale pour corriger la dysfonction musculaire au regard de l'ensemble des données obtenues jusqu'alors. La pratique d'exercices d'endurance et de résistance n'engendre pas de phénomène d'interférence sur des périodes inférieures à 16 semaines et permet d'améliorer la fonction musculaire quel que soit l'ordre des exercices. L'amélioration de la fonction physique globale du patient hémodialysé inclut l'augmentation de l'équilibre, de la vitesse de marche, de la force des membres inférieurs et supérieurs ainsi que de la résistance à la fatigue. Grâce à un effet controlatéral de grande amplitude, l'entraînement du membre supérieur ne présentant pas de fistule permet d'améliorer la force du bras non exercé, particulièrement si la fistule se situe du côté non-dominant.

La réhabilitation combinée n'est cependant pas accessible aux patients les plus déconditionnés ou présentant une intolérance à l'effort à cause des contraintes métaboliques et cardiovasculaires importantes associées à l'exercice de type concentrique. Or, la pratique du pédalage excentrique en position allitée apparaît comme faisable et ne sollicite que très peu le système cardiovasculaire tout en

permettant de développer des puissances mécaniques importantes. L'entraînement en excentrique est à l'origine d'adaptations précoces et transférables à d'autres modes de contraction, permettant d'améliorer rapidement la performance en isométrique et en concentrique. L'incorporation de l'exercice excentrique dans les programmes de réhabilitation pourrait permettre leur accessibilité à un plus grand nombre de patients et de potentialiser leurs effets sur le tissu musculaire dans son intégralité. Les travaux futurs sur la protection du microbiote intestinal et de la fonction cardiaque pourraient établir des intérêts complémentaires à ces approches thérapeutiques de la dysfonction musculaire par l'exercice.

Les stratégies thérapeutiques basées sur l'activation de la synthèse protéique ou sur l'inhibition des voies de dégradation n'ont pas permis de développer jusqu'alors de traitement pharmacologique de la dysfonction musculaire, nécessitant l'identification de nouvelles cibles. Dans l'antagonisme entre hypertrophie et atrophie musculaire, eIF3f exerce un rôle pivot en étant à la fois activateur de la synthèse protéique et substrat des voies de dégradation. L'existence de ces partenariats avec des acteurs majeurs de la synthèse et de la dégradation protéique valide l'importance de eIF3f dans le développement puis dans la maintenance du tissu musculaire adulte. L'étude des effets du niveau d'expression de eIF3f sur le maintien de l'homéostasie musculaire *in vivo* a permis de confirmer la spécificité de ses fonctions au sein du muscle strié squelettique.

A l'état basal, eIF3f exerce un rôle fonctionnel sur la force et l'endurance en impactant les propriétés contractiles du muscle strié squelettique, la dépense énergétique et l'utilisation des différents substrats. Les fonctions physiologiques de eIF3f, essentielles à la synthèse protéique associée à MTORC1 et à la biogenèse des ribosomes, déterminent le contenu protéique et le diamètre des fibres musculaires dans des conditions normales. Dans des conditions d'hypoactivité, la protéine eIF3f augmente le flux de synthèse protéique par le biais de MTORC1 et de ses effecteurs comme S6K1. Le niveau d'expression de la protéine eIF3f, à l'état basal et en condition d'hypoactivité, ne semble pas avoir d'impact sur les principales voies de dégradation que sont le système ubiquitine-protéasome et l'autophagie.

L'inhibition de la dégradation de eIF3f par MAFbx au cours de l'atrophie induite par l'immobilisation permet de conserver un haut niveau d'expression protéique et de maintenir une activité résiduelle de synthèse protéique dépendante de MTORC1. L'augmentation du flux de synthèse protéique permet de résister à la perte musculaire dans la phase précoce de l'immobilisation mais permet seulement d'en ralentir la progression à un stade plus tardif. L'étude plus approfondie des rôles du facteur d'initiation de la traduction eIF3f dans le maintien de la fonction musculaire et dans le métabolisme chez l'animal sain, puis dans des modèles de dysfonction musculaire comme l'insuffisance rénale chronique, et enfin chez l'Homme, pourrait permettre dans le futur le développement de nouvelles thérapeutiques du déconditionnement musculaire.

MATERIEL ET TECHNIQUES

Les protocoles permettant la mesure de l'activité nerveuse par EMG, le génotypage des souris, l'évaluation de la composition corporelle par EchoMRI, la mesure de la surface de section des muscles, la quantification de l'expression des ARNm par RT-PCR et QPCR, la quantification de l'expression protéique par Western Blot ou encore la mesure du flux de synthèse protéique sont intégrés dans les publications présentées précédemment. Les techniques qui ont été mises au point ou nécessitant d'être détaillées sont présentées dans ce chapitre sous forme de fiches méthodologiques. Les matériels utilisés lors des expérimentations ayant fait l'objet d'une publication sont également décrits dans les articles présentés précédemment. Le matériel utilisé pour la PCR quantitative, pour les Western Blots et pour le génotypage des souris transgéniques est aussi présenté dans ce chapitre.

[Fiche méthodologique #1](#) : Demande auprès du Comité de Protection des Personnes

[Fiche méthodologique #2](#) : Evaluation fonctionnelle du patient dialysé

[Fiche méthodologique #3](#) : Réhabilitation combinée du patient dialysé

[Fiche méthodologique #4](#) : Montage d'un ergomètre excentrique adapté au lit

[Fiche méthodologique #5](#) : Epreuve d'effort incrémentale sur bicyclette instrumentée

[Fiche méthodologique #6](#) : Demande de protocoles d'expérimentation animale

[Fiche méthodologique #7](#) : Immobilisation de la patte arrière de la souris

[Fiche méthodologique #8](#) : Evaluation des capacités fonctionnelles des souris

[Fiche méthodologique #9](#) : Evaluation du métabolisme des souris

[Fiche méthodologique #10](#) : Mesure de la contractilité *ex-vivo*

[Tableau #1](#) : Liste des amorces utilisées pour la PCR en temps réel

[Tableau #2](#) : Liste des amorces utilisées pour le génotypage des souris transgéniques

[Tableau #3](#) : Liste des anticorps primaires utilisés en Western Blot

[Tableau #4](#) : Liste des anticorps secondaires utilisés en Western Blot

Fiche méthodologique #1 : Demande auprès du Comité de Protection des Personnes

Obtention d'un numéro d'enregistrement

Préalablement à tout dépôt de dossier de demande d'autorisation sur une recherche impliquant la personne humaine auprès d'un Comité de Protection des Personnes, les promoteurs doivent obtenir un numéro d'enregistrement de la recherche. Après enregistrement sur le site internet de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM), la demande de numéro d'enregistrement se fait en ligne. Ce numéro, également dénommé « numéro ID-RCB », est destiné à identifier chaque recherche réalisée en France.

Constitution du dossier de demande

En France, les Recherches Impliquant la Personne Humaine sont encadrées par la loi Jardé et classées en 3 catégories. Dans notre cas, l'étude de faisabilité était une étude de catégorie 3 dite « non interventionnelle » ne comprenant que des mesures non invasives effectuées sur des sujets volontaires sains. Même dans le cadre de ces recherches dont les risques et les contraintes sont minimales, les procédures administratives sont longues.

Le dossier de demande d'autorisation devait être conforme avec le 3° de l'article L. 1121-1 du Code de la Santé Publique. Ce dossier, déposé sur la plateforme SI CNRIPH, comprenait un formulaire de demande d'avis, le protocole de recherche, le résumé du protocole en français, le document d'information destiné aux personnes qui se prêtent à la recherche, le cahier de recueil des données, la liste des investigateurs, les CV des investigateurs et une déclaration de conformité à une méthodologie de référence CNIL.

Le Comité du [] prenant en compte ces modifications et considérant que ce protocole est conforme avec le 3° de l'article L.1121-1 du Code de la Santé Publique, notifie l'avis définitif suivant :

AVIS FAVORABLE

Cet avis rendu [] est valable pour 2 ans, si la recherche n'a pas débuté durant cette période, il devient caduc (article R. 1123-26). **La première inclusion doit être déclarée au CPP dans les meilleurs délais.**

Fiche méthodologique #2 : Evaluation fonctionnelle du patient dialysé

Nom :**Taille :****Prénom :****Genre :****Age :****Poids sec :**

Short Physical Performance Battery

*Test d'équilibre*Matériel : 1 chronomètre.

« Pour ce test, je vais vous demander de vous tenir debout les pieds joints pendant une dizaine de secondes.

(Faire la démonstration les pieds joints)

Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien !

Maintenant je vais vous demander de faire le même exercice en décalant les pieds comme ceci :

(Faire la démonstration les pieds en semi-tandem)

Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien !

Maintenant je vais vous demander de faire le même exercice en décalant les pieds comme ceci :

(Faire la démonstration les pieds en tandem)

Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! »

*Test de vitesse de marche (test sur 4m)*Matériel : 2 morceaux de scotch, 1 mètre, 1 chronomètre.Préparation : Matérialiser la distance à parcourir.

« Pour ce test, vous allez devoir marcher à vitesse confortable le long du couloir dessiné au sol.

(Faire la démonstration)

Je déclencherai le chronomètre dès que vous passerez la première ligne, et je l'arrêterai quand vous passerez la seconde. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! On va réaliser une deuxième fois le test. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! »

Test des levers de chaise

Matériel : 1 chaise sans accoudoir, 1 chronomètre.

« Pour ce test, vous allez devoir vous lever et vous rasseoir 5 fois sur cette chaise.

(Faire la démonstration)

Vous allez croiser les bras sur la poitrine et vous servir uniquement de vos jambes. Je compterai à voix haute le nombre de levers et je vous chronométrerai. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! »

(Remplir la feuille de test et calculer le score SPPB)

Résultats du SPPB

	Chronométrage	Temps en seconde	Vitesse en m/s	Score
Test d'équilibre		L'équilibre pieds joints n'est pas maintenu 10 secondes		0
		L'équilibre pieds joints est maintenu 10 secondes mais l'équilibre en semi-tandem ne peut être maintenu 10 secondes		1
		L'équilibre en semi-tandem est maintenu 10 secondes mais l'équilibre en position tandem n'est pas tenu plus de 2 secondes		2
		L'équilibre en position tandem est maintenu 3 à 9 secondes		3
		L'équilibre en position tandem est maintenu 10 secondes		4
Vitesse de marche (test sur 4m)	Temps (secondes) _ _ _ , _ _ _	Non réalisable		0
		$\geq 9''30$	≤ 0.43 m/s	1
		9''29 – 6''66	0.44 – 0.60 m/s	2
		6''65 – 5''19	0.61 – 0.77 m/s	3
		$\leq 5''18$	≥ 0.78 m/s	4
Se lever 5 fois d'une chaise	Temps (secondes) _ _ _ , _ _ _	Non réalisable		0
		$\geq 16''7$		1
		13''7 – 16''6		2
		11''2 – 13''6		3
		$\leq 11''1$		4
SCORE TOTAL				/12

Appui unipodal

Matériel : 1 chronomètre.

« Je vais vous demander de tenir en équilibre sur un pied.

(Faire la démonstration)

Prenez le temps de vous mettre en position. Je déclencherai le chronomètre quand vous serez prêt(e).

Au maximum, le test durera 30 secondes par jambe. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! »

Force de préhension

Matériel : 1 dynamomètre.

« Cet appareil mesure votre force de préhension et se prend comme ceci.

(Faire la démonstration)

Vous allez maintenir votre coude le long du corps et le garder fléchi.

(Vérifier l'angle du coude et le positionner si besoin à 100°)

Vous allez serrer les doigts sur l'appareil le plus fort possible. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien !

Nous allons maintenant faire la même mesure sur votre autre bras avant de faire une seconde mesure de chaque côté. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! »

	Force (kg)	
	Bras gauche	Bras droit
Essai 1		
Essai 2		

Force maximale isométrique d'extension du genou

Matériel : 1 Microfet, 1 sangle non extensible, 1 mètre, 1 table d'examen.

Préparation : Fixer le Microfet à la table d'examen et vérifier qu'il tient bien en place. Passer la sangle inélastique dans le dispositif et faire l'étalonnage de l'appareil.

« Je vais vous demander de vous placer assis, face à moi, sur la table d'examen. Pour ce test qui consiste à mesurer la force de vos jambes, vous allez rester les bras croisés sur la poitrine avec les hanches et les genoux fléchis à 90°. Je vais maintenant mesurer la force de votre jambe droite. Je vais placer une sangle sur votre cheville qui est reliée à l'appareil de mesure.

(Placer la sangle à 2 cm du côté proximal de la malléole externe et régler si besoin la hauteur de la table d'examen avant de mesurer le bras de levier)

Vous pouvez faire un essai en essayant de tendre la jambe progressivement pour vous familiariser avec le dispositif. Allez-y, essayez de tendre la jambe. Si vous n'avez pas de questions, on va commencer le test.

(Au moins 30 secondes de repos)

Quand je vous le dirai, vous allez essayer de tendre la jambe le plus fort possible. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien !

(Au moins 1 minute de repos)

On va répéter le test une deuxième fois. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! On va maintenant procéder exactement de la même façon avec votre jambe gauche. Vous êtes prêt(e) ? Allez-y. Très bien ! »

	Force (N)	
	Jambe gauche	Jambe droite
Essai 1		
Essai 2		
Longueur du bras de levier (m)		

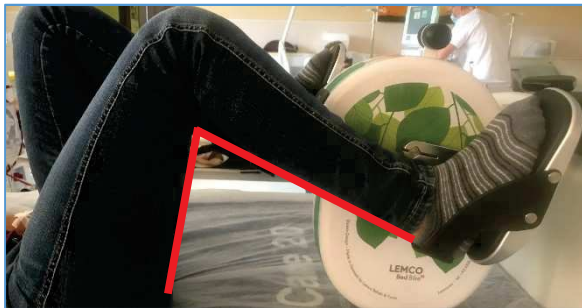
Fiche méthodologique #3 : Réhabilitation combinée du patient dialysé

Mise en place du pédalier Lemco BedBike

- Le vélo est à installer après la première demi-heure et avant la dernière heure de l'hémodialyse
- La résistance va de 0 (aucune force résistive) à 4 : à titre indicatif, un patient qui ne marche pas commencera à 0 et pourra passer en résistance 1 après 4 à 5 sessions ; un patient encore actif commencera en résistance 2 et montera au bout de 3 à 4 sessions à la résistance 3.
- La vitesse de pédalage peut rester à la libre appréciation du patient, cependant, mieux vaut une vitesse moyenne maintenue longtemps qu'un sprint de 5 minutes.

Fixer le pédalier sur le pied de lit du patient et serrer la molette. Il faut bien faire attention une fois le pédalier fixé à la position du patient. Trop près, il se fatiguera rapidement ; trop loin, il ne pourra pas pédaler régulièrement. C'est l'angle du genou à la distance maximale de la pédale qui détermine la bonne distance. Le pédalage peut se pratiquer complètement couché ou avec le dossier relevé, le tout étant le confort du patient.

Trop près : angle fermé



Trop loin : angle plat



Position idéale : angle ouvert



Exercices de renforcement musculaire

Exercice	Bande	Consignes
<i>Grip en supination</i>	Au bas du lit ou au pied	Tirez vers l'arrière, les doigts vers le haut
<i>Grip en pronation</i>	Au bas du lit ou au pied	Tirez vers l'arrière, les doigts vers le bas
<i>Biceps curl</i>	Sur le côté du lit	Pliez le bras, les doigts vers votre épaule
<i>Abduction horizontale de l'épaule</i>	Au-dessus du lit	Descendez le bras vers vous tout en le gardant tendu
<i>Grip en position neutre</i>	Au bas du lit ou au pied	Tirez vers l'arrière, les doigts vers l'intérieur
<i>Presse mollets</i>	Au-dessus du lit +/- au pied du lit	Pointez vos pieds puis relevez vos orteils
<i>Lever de jambe tendue</i>	Au-dessus du lit	Levez la jambe tout en la gardant tendue
<i>ABC avec les orteils</i>	Au-dessus du lit	Dessinez l'alphabet avec vos orteils
<i>Extension abdominale de la jambe</i>	Au-dessus du lit	Pliez la jambe en la remontant vers vous puis tendez là
<i>Flexion d'épaule bras tendu</i>	+/- poids	Remontez votre bras tout en le gardant tendu
<i>Ciseaux verticaux</i>	Au-dessus du lit +/- poids	Remontez et descendez la jambe en la gardant tendue
<i>Ciseaux horizontaux</i>	Au-dessus du lit +/- poids	Ecartez et rapprochez vos pieds en gardant les jambes tendues
<i>Descente de coude</i>	En haut du lit	Descendez le coude tout en gardant le bras fléchi
<i>Presse jambes</i>	En haut du lit + dans la main	Tendez la jambe tout en la gardant dans l'axe
<i>Levers de bassin</i>	+/- poids	Pliez vos jambes, les pieds sur le lit et montez le bassin

Programme de réhabilitation continu

Date :**Heure :****ID patient :****Séance n°**

5 minutes d'échauffement/récupération : vélo, basse résistance, vitesse faible à moyenne.

Consignes : pédalez à vitesse confortable, c'est pour s'échauffer pendant 5 minutes.

Monter la résistance et noter la vitesse une fois que le patient a réussi à trouver son rythme.

Temps	Vitesse	Résistance	Notes
0 – 5'			
5 – 10'			
10 – 15'			

Enlever le vélo et mettre en place les bandes élastiques et les poids.

Consignes : Je vais vous demander plusieurs exercices. A chaque fois, vous le répérez jusqu'à ce que vous sentiez que vos muscles fatiguent. On fera une pause et on changera d'exercice.

Exercice	Difficulté	Répétitions	Poids/Notes
<i>Presse mollets</i>	+		
<i>Lever de jambe tendue</i>	++		
<i>Biceps curl</i>	+		
<i>Ciseaux horizontaux</i>	++		
<i>Grip en position neutre</i>	+		
<i>ABC avec les orteils</i>	++		

Programme de réhabilitation discontinu

*Séance type « endurance »***Date :****Heure :****ID patient :****Séance n°**

5 minutes d'échauffement/récupération : vélo, basse résistance, vitesse faible à moyenne.

Consignes : pédalez à vitesse confortable, c'est pour s'échauffer/récupérer pendant 5 minutes.

Monter la résistance et noter la vitesse une fois que le patient a réussi à trouver son rythme.

Temps	Vitesse	Résistance	Notes
0 – 5'			
5 – 10'			
10 – 15'			
15 – 20'			
20 – 25'			
25 – 30'			

Séance type « résistance »

Date : **Heure :** **ID patient :**

Séance n°

5 minutes échauffement : respiration abdominale et étirements. Demander 4 à 5 respirations profondes en faisant gonfler et dégonfler le ventre. Articulation par articulation, demander un mouvement lent mais ample dans chaque direction. Finir par une rotation quand c'est possible.

Consignes : Je vais vous demander plusieurs exercices. A chaque fois, vous le répérez jusqu'à ce que vous sentiez que vos muscles fatiguent. On fera une pause et on changera d'exercice.

Exercice	Répétitions	Muscles	Répétitions	Notes
<i>Grip en supination</i>	+	Avant-bras, épaule, biceps		
<i>Presse mollets</i>	+	Tibialis, gastrocnémiens,		
<i>Grip en pronation</i>	+	Avant-bras, épaule, triceps		
<i>Lever de jambe tendue</i>	++	Quadriceps, abdominaux		
<i>Biceps curl</i>	+	Biceps, avant-bras		
<i>Ciseaux horizontaux</i>	++	Abducteurs, fessiers		
<i>Abduction horizontale de l'épaule</i>	+	Triceps, pectoraux, épaule		
<i>Grip en position neutre</i>	+	Biceps, triceps, avant-bras, épaule		
<i>ABC avec les orteils</i>	++	Tibialis, gastrocnémiens, quadriceps		

5 minutes de récupération : respiration abdominale et étirements.

Fiche méthodologique #4 : Montage d'un ergomètre excentrique adapté au lit

Assemblage initial du pédalier

Dans un premier temps, un petit moteur (500 W) de vélo électrique a été utilisé mais ne suffisait pas à produire assez de couple aux pédales. L'ergomètre utilisé pour la faisabilité comprenait un nouveau moteur direct drive de 1500 W piloté par un microcontrôleur Sensorless (GrinTech Sinewave ou Phaserunner) et alimenté par une batterie de 48V et 12AH. Face aux puissances développées et pour ne pas risquer de briser la chaîne de vélo, le modèle classique utilisé jusqu'alors a été remplacé par une chaîne renforcée. Le tout a été monté dans l'atelier de l'INRAE sur un lève-patient donné par l'AIDER Santé permettant de rendre le système mobile et adaptable à un lit d'hôpital.

Le réglage de la vitesse de rotation du moteur était assuré par un potentiomètre rotatif et deux freins de type coupe-circuit permettaient l'arrêt complet du système. L'un était accessible à la personne qui pédalait et l'autre à un intervenant extérieur. Le pédalier SRM permettait de mesurer la vitesse et la force et de les afficher sur le SRM PowerControl Device VI. Les données électriques de puissance étaient affichées sur un Cycle Analyst V3.



Montage initial de l'ergomètre excentrique

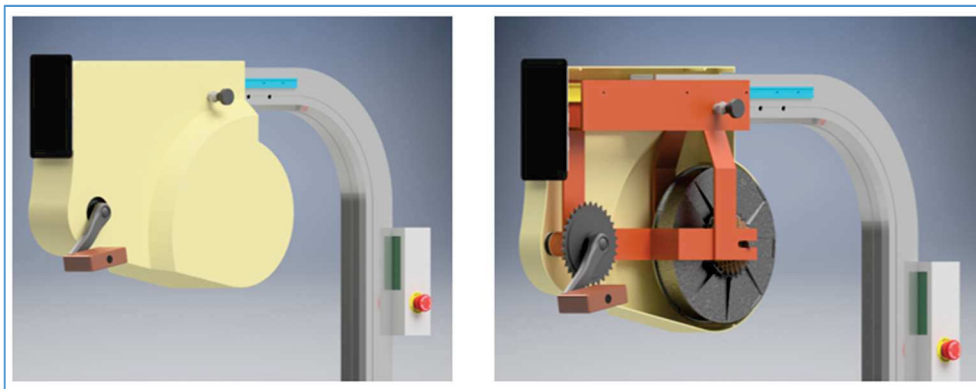
Pour l'étude de faisabilité, les pédales pièges à loup initialement montées ont été remplacées par des pédales automatiques pour permettre la fixité du pied. L'ensemble comprenant la batterie, le contrôleur et les différents afficheurs a été monté sur le lève-patient et les raccordements électriques ont été sécurisés.



Utilisation de l'ergomètre excentrique lors de l'étude de faisabilité

Développement de l'ergomètre

Le projet de pédalage excentrique au lit a été sélectionné comme Projet de Développement Industriel par l'Institut des Mines d'Alès trois années consécutives. Plusieurs étudiants du cursus ingénieur spécialisé en mécatronique ont continué le développement de l'ergomètre, avec le design d'un carter imprimable en 3D, la création d'une interface, la mise en place de boucles de sécurité, le réglage électronique du couple et l'amélioration de la compacité du système.



Conception Assistée par Ordinateur (CAO) du carter

Fiche méthodologique #5 : Performance concentrique sur bicyclette instrumentée

Mise en route du système

Connecter les fils de l'ergomètre à l'ordinateur. L'un se visse, l'autre se clipse, et le branchement côté ordinateur se branche à l'arrière de la tour, tout en bas. Les fils reliant l'ergomètre à l'ordinateur sont très fragiles, ils sont à manipuler avec précaution.

Fixer les pédales et allumer l'ordinateur. Régler la hauteur de la selle de l'ergomètre, à peu près à hauteur de hanche. Lorsque la pédale est en bas, la jambe du sujet ne doit pas être tendue. L'ordinateur tourne sous DOS et le clavier fonctionne en Qwerty. Une fois le système mis en route, insérer la disquette dans la tour.

Pour vérifier le contenu de l'ordinateur, entrer « **dir** ».

Pour effacer un fichier, entrer « **del NOMDUFICHIER.FORMAT** » ou « **del NOMDUFICHIER*.*** ». Certains fichiers comme les fichiers « CALSI » ne doivent surtout pas être supprimés.

Pour copier un fichier sur la disquette entrer « **copy NOMDUFICHIER.FORMAT a :** » ou « **copy NOMDUFICHIER*.* a :** ». Pour aller dans THIBAUD à partir du disque principal, entrer A:\> « **c :** ».

Démarrage du logiciel

Appuyer deux fois sur « **ENTREE** » au moment de rentrer la date et l'heure.

Entrer « **cd THIBAUD** » puis « **TB** » pour entrer dans le logiciel.

Aller ensuite dans « **Fichiers** » puis « **Chargement** ». Appuyer sur « **ENTREE** » plusieurs fois pour sélectionner « **CVREGIS** ».

Aller ensuite dans le menu « **Run** ».

Epreuve force-vitesse

Aller dans **(4) LOAD A FILE FROM THE DISK**. Enter "**CALSI**", « **ENTREE** » puis **Y** pour Yes.

Aller dans **(5) DISPLAY THE MEASUREMENT**. Entrer "3" pour visualiser la force puis "0" pour valider.

Entrer 5 (« comp ») puis 4 (« cal ») puis Y pour Yes. Entrer « 0 » pour la première valeur puis « ENTREE » et « 96.2361 » (=9.81²) pour la seconde puis « ENTREE ».

Entrer Y pour Yes et « 0 » pour sortir du menu, puis **(0) END THE PROGRAM**.

Entrer dans **(1) MONITOR THE CHANNELS** pour vérifier l'équation : +0.1565 / -301.07 / +XXXX/ +XXXX.

La calibration doit être refaite à chaque ouverture du logiciel.



Sujet installé sur la bicyclette instrumentée pour l'épreuve force-vitesse

Les 5 sprints se feront à 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1 Newton/kg. Connaissant le poids du sujet en kg, les valeurs en Newton doivent être calculées individuellement.

Entrer la valeur en Newton : **(1) MONITOR THE CHANNELS** et régler avec la molette de l'ergomètre la valeur pendant que le sujet pédale.

Entrer dans **(2) PERFORM A NEW MEASUREMENT** puis taper Y pour Yes et modifier les paramètres.

Nommer le fichier : NOM1 pour le 1^{er} sprint (à 0.2 N/kg), NOM2 pour le 2nd sprint (à 0.4 N/kg), etc.

Le fait de rentrer un nom déjà existant remplacera le fichier déjà enregistré.

Entrer la date, le poids, la valeur en Newtons correspondant au sprint, la fréquence (200 Hz) et la durée (4s), puis valider par **Y**. Vérifier les paramètres et appuyer sur **Y** pour valider.

Le logiciel est prêt pour la mesure. Pour démarrer, demander au sujet de se placer pied gauche prêt à pédaler. Faire le décompte et appuyer juste sur « **ENTREE** ».

A la fin de la mesure, entrer le nom du fichier (NOM1, NOM2, etc), « **ENTREE** » puis **Y**. Pour le lire, aller dans **(6)** COMPUTATIONS puis **(1)** puis entrer « **N** » et « **Y** ».

Aller ensuite dans le **(5)**, sélectionner les paramètres à afficher et valider par « **0** ».

Enregistrement des données

Les fichiers sont stockés sur l'ordinateur. A chaque séance il est nécessaire de les copier sur la disquette, d'extraire les données sur ordinateur avec le lecteur de disquette USB avant de pouvoir les effacer de la disquette et de l'ordinateur d'acquisition.

Sur C:\THIBAUD, entrer « **copy NOMDUFICHIER.FORMAT a :** » ou « **copy NOMDUFICHIER*.* a :** »

Une fois les données récupérées, il faut fermer le programme.

(0) END OF THE PROGRAM. Entrer « **Y** » pour YES. Aller dans « **Fichiers** » puis sélectionner « **DOS** ». L'écran affiche C:\THIBAUD>.

L'ordinateur peut alors être éteint directement au bouton.

Penser à débrancher les fils délicatement, à les fixer au guidon de l'ergomètre et à débrancher le câble sur la tour pour la mettre en hauteur et à sortir la disquette.

Fiche méthodologique #6 : Demande de protocoles d'expérimentation animale

Formulaire APAFIS

Conformément à la loi relative à l'utilisation des animaux dans des protocoles expérimentaux et à la directive 2010/63/UE, toute étude impliquant des animaux doit être déclarée auprès du système d'Autorisation de Projet utilisant des Animaux à des Fins Scientifiques (APAFIS). La soumission d'un projet de recherche auprès d'un comité d'éthique national garantit la protection du chercheur vis-à-vis de critiques d'ordre éthique. La gestion des projets de recherche expérimentale est assurée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Le formulaire APAFIS à remplir requiert, en plus des informations générales relatives au projet, un résumé non technique, les informations administratives et réglementaires ainsi que la saisie de toutes les procédures expérimentales. Ces informations sont remplies par le porteur de projet pour que l'établissement utilisateur en fasse la demande.

Constitution du dossier de demande

Le détail de toutes les procédures expérimentales prévues par le projet doit préciser le nombre d'animaux, leur âge, leur genre, leur condition d'hébergement et les conditions de suivi de leur bien-être. Chacun de ces points doit être justifié quant à leur intérêt scientifique et la validité des méthodes utilisées. Les « 3R » permettant de Réduire le nombre d'animaux, Raffiner les méthodes et Remplacer les modèles animaux doivent être explicités. Toutes les dispositions permettant d'éviter toute forme de souffrance aux animaux, de la naissance à la mort, doivent être mises en place. La notion de points limites doit aussi être précisée pour chaque procédure.

Le comité d'éthique fait un retour écrit après examen de la demande et peut demander la précision de plusieurs points ou la modification de certaines procédures. Les bénévoles du comité veillent au respect de la réglementation et ont pour mission d'assurer une utilisation optimale de l'animal de laboratoire en garantissant un comportement éthique des chercheurs vis-à-vis de ces animaux et en assurant leur bien-être. Si la saisine est jugée satisfaisante, le comité délivre un numéro d'autorisation valable pour le projet dans son intégralité, c'est-à-dire pour toutes les procédures expérimentales déclarées dans celui-ci.

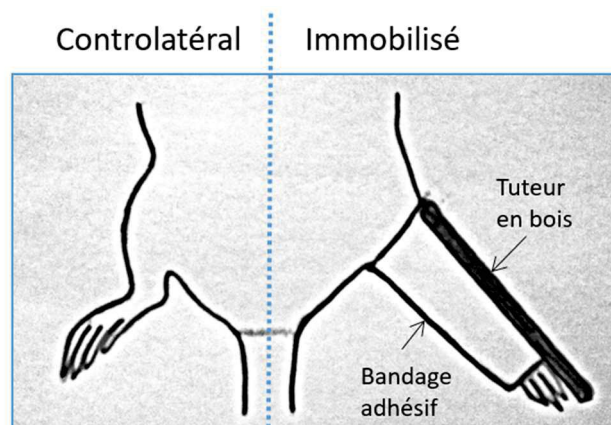
Fiche méthodologique #7 : Immobilisation de la patte arrière de la souris

Préparation du matériel

Les souris sont amenées dans la salle d'expérimentation de l'animalerie et les animaux sont placés dans des cages individuelles. Les tuteurs en bois de 1,5 mm de diamètre sont coupés puis limés pour mesurer 3,5 cm et ne pas présenter d'aspérité. Le bandage adhésif (Extensa® Plus, Hartmann) est découpé en rectangles de 7 x 2 cm. Une compresse imbibée d'isoflurane (IsoVet®, Piramal Healthcare) est placée dans l'inhalateur maintenu fermé.

Immobilisation unilatérale de la patte arrière

Après avoir été pesées, les souris sont anesthésiées par inhalation d'isoflurane. La respiration des animaux est contrôlée tout au long de la procédure. Dès lors que le test de pincement de la patte ne provoque plus de réaction, la patte arrière est placée en extension. Le tuteur en bois est placé à l'extérieur de la patte avant d'enrouler sans serrer le bandage semi-rigide. Le tout laisse apparaître le bout des doigts, sensible à toute compression, permettant ainsi d'éviter les problèmes d'ordre circulatoire grâce à un simple contrôle visuel. Le poids total du pansement est d'environ 1g et représente donc moins de 5% du poids corporel de la souris. La durée d'anesthésie ne dépasse pas la minute. La souris est ensuite replacée dans sa cage et le pansement inspecté tous les jours pour éviter tout risque de lésion, d'abrasion de la peau ou toute trace de mordillement. Si besoin, un petit rajout de bandage peut être réalisé sans anesthésie en effectuant la contention de la souris.



Immobilisation unilatérale de la patte arrière

Fiche méthodologique #8 : Evaluation des capacités fonctionnelles des souris

Activité spontanée

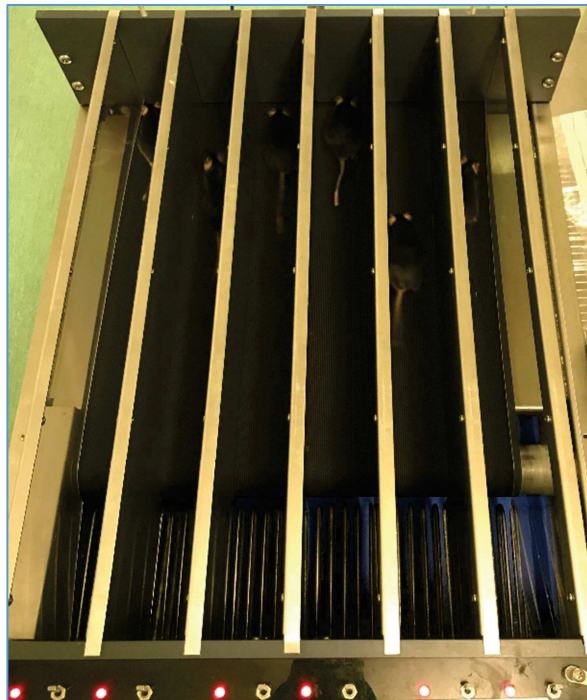
Matériel : 1 roue d'activité reliée à son compteur de tours par souris.

Préparation : La veille, placer les souris en cages individuelles adaptées aux roues d'activité. Il est préférable de placer un abri en cellulose plutôt que des carrés de ouate en tant qu'enrichissement, la ouate pouvant bloquer la roue. Placer les roues et les relier au système d'acquisition en veillant à ce que les fils de connexion soient hors de portée des animaux.

Déroulement : Après 24 heures d'acclimatation, remettre le compteur de tours à zéro et vérifier que les roues tournent librement. Les relevés sont à effectuer quotidiennement, à heure fixe, sur une semaine complète.

Vitesse maximale aérobie (VMA)

Matériel : 1 tapis de course pour souris (Columbus Instruments, modèle Exer-3R), 1 chronomètre.



Tapis de course Columbus Exer-3R

Préparation : La semaine précédant le test de VMA, acclimater les souris au tapis 3 jours consécutifs. Repousser la souris avec la main dès qu'elle s'approche de la grille éteinte. La 1^{ère} session, laisser les souris dans leur couloir, tapis éteint, pendant 10 minutes. La 2^{ème} session, placer les souris sur tapis éteint 5 minutes, puis allumer le tapis progressivement à vitesse faible (7 à 10 m/minute) pendant 5 minutes. Les repousser dès qu'elles s'approchent de la grille éteinte. La 3^{ème} session, laisser les souris 10 minutes sur le tapis en les amenant progressivement à 10 m/minute avec la grille allumée.

Temps (min)	Vitesse (m/min)
5	10
6	12
7	14
8	16
9	18
10	20
11	22

Test de VMA sur tapis roulant

Déroulement : Le jour du test, allumer la grille et laisser 5 minutes d'échauffement à 10 m/minute avant d'augmenter la vitesse de 2 m/min chaque minute. Répéter le test pour confirmer les résultats en laissant un temps de repos suffisant (2 à 3 jours).

Test d'endurance

A partir des résultats de vitesse maximale aérobie, calculer la vitesse correspondant à 70% de la VMA. Si les souris présentent des résultats hétérogènes, il est préférable de constituer des groupes de souris avec des VMA homogènes. Le jour du test, allumer la grille et laisser 5 minutes d'échauffement à 10 m/minute avant de placer progressivement les souris à 70% de leur VMA. Répéter le test pour confirmer les résultats en laissant un temps de repos suffisant (2 à 3 jours).

Force de préhension

Le principe du grip-test est de mesurer la force de préhension maximale d'une souris. Ce test consiste à ce que la souris attrape une barre métallique connectée à un dispositif de mesure de force. La valeur maximale est enregistrée en tant que force de préhension des pattes avant. Dans sa forme originale, le test est pratiqué à l'horizontale. Une adaptation de la méthode conventionnelle du grip test a été mise en place en faisant pivoter le système verticalement, permettant d'éliminer la composante oblique de force et ainsi d'obtenir des résultats plus fiables.

Matériel : 1 Grip Strength Test (Bioseb), 1 poids.

Préparation : Monter l'appareil avec la barre métallique adaptée à la souris. Placer le système à la verticale avec le poids sur le rebord de la paillasse.

Déroulement : Mettre l'appareil à zéro et demander la mesure en grammes (g). Présenter la barre à la souris en la tenant par la queue. Lorsqu'elle s'agrippe à la barre avec les deux pattes avant, soumettre des petites tensions sur le haut de la queue pour qu'elle essaye de se tracter sur la barre. Enregistrer la mesure et répéter l'opération 3 fois en laissant 5 minutes de repos entre chaque essai.



Version modifiée du Grip Strength Test

Fiche méthodologique #9 : Evaluation du métabolisme des souris

Cages métaboliques

Matériel : 1 cage métabolique (Comprehensive Lab Animal Monitoring System, Columbus Instruments) par souris.

Préparation : Les cages métaboliques sont équipées de calorimètre à circuit ouvert (Oxymax) permettant la mesure de la consommation d'oxygène (VO_2) et la production de dioxyde de carbone (VCO_2). Chaque cage est hermétique et le système permet donc la mesure individuelle des échanges gazeux. Le système de mesure doit d'abord être mis en route puis étalonné avant toute mesure.

Déroulement : La veille de la mesure, peser puis placer les souris dans les cages individuelles du système. Laisser 24 heures aux animaux pour s'acclimater à leur nouveau milieu puis lancer la mesure sur 24 heures.

Test de tolérance au glucose (OGTT)

Matériel : 1 solution de glucose à 20%, 2 seringues de 1 mL, 2 canules de gavage, des compresses, 1 paire de ciseaux de dissection, 2 tubes de contention, 2 chronomètres, 1 balance, 2 statifs, 2 glucomètres et 9 bandelettes minimum par souris.

Préparation : Isoler les souris en cages individuelles quelques jours avant le test. La veille (21h), les mettre à jeun sur grille. La mesure de la glycémie nourrie peut être faite à ce moment-là en effectuant une petite incision du bout de la queue et en déposant une gouttelette de sang sur la bandelette test du glucomètre. Le jour du test, prévoir un poste pour le gavage et deux postes pour la mesure de la glycémie.

Déroulement : Le matin (8-9h), peser les souris et déterminer le volume de gavage. Pour 2g/kg, ce volume (en μ L) correspond à 10 x le poids du corps. Couper 1 mm de l'extrémité de la queue en laissant la souris sur le couvercle de sa cage. Placer la souris dans le tube de contention, fixer le tout sur le statif et mesurer la glycémie à jeun en faisant attention à la présence éventuelle de lymphe.

Préparer les deux premières seringues en faisant attention au volume mort. Procéder au gavage oral de glucose et démarrer les chronomètres. Mesurer la glycémie par prélèvement d'une nouvelle

gouttelette de sang en massant la veine de la queue à 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 et 180 minutes si la valeur n'est pas redescendue.

Souris	Poids	Volume de gavage	Glycémie							
			0	15	30	45	60	90	120	180

Au cours de ce test, il peut être utile de procéder également au prélèvement de sang pour doser l'insuline à posteriori. Avant le gavage, récolter environ 50µL de sang en massant la veine de la queue dans des microtubes Eppendorf de 1,5 mL. Pour éviter la coagulation placer toujours la goutte au même endroit sur le rebord du tube et le garder à l'horizontale. Agiter le tube et centrifuger (1 min, 10000 g) rapidement pour récupérer le plasma et doser l'insuline a posteriori. Pour deux postes de prélèvement de sang, séparer les souris de 2 minutes. Les prélèvements de sang se font à 0, 30, 60 et 120 minutes. 5µL de plasma sont nécessaires pour le dosage de l'insuline, à prévoir en duplicata.

Test de tolérance à l'insuline (ITT)

Matériel : 1 solution de glucose à 20%, 1 solution d'insuline à 0,1 UI/mL à préparer à partir de la solution stock (100 UI/mL) dans une solution saline à 0,9%, 2 seringues de 1 mL, 1 seringue de 500 µL pour 3 souris, 2 canules de gavage, des compresses, 1 paire de ciseaux de dissection, 2 tubes de contention, 2 chronomètres, 1 balance, 2 statifs, 2 glucomètres et 9 bandelettes minimum par souris.

Préparation : Isoler les souris en cages individuelles quelques jours avant le test. Le matin (8h), placer les souris en pièce d'expérimentation et les mettre à jeun 1h plus tard. Prévoir deux postes pour la mesure de la glycémie.

Déroulement : En début d'après-midi (13-14h), peser les souris et déterminer le volume à injecter. Pour 0,75 UI/kg, ce volume (en µL) correspond à 7,5 x le poids de corps. Calculer aussi le volume de glucose à injecter si la souris tombe en hypoglycémie. Pour 2g/kg, ce volume correspond à 10 x le poids

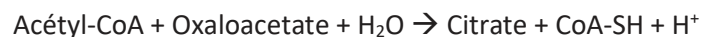
de corps. Couper l'extrémité de la queue en laissant la souris sur le couvercle de sa cage et mesurer la glycémie en faisant attention à la présence éventuelle de lymphes.

Préparer les deux premières seringues en faisant attention au volume mort. Procéder à l'injection intrapéritonéale d'insuline et démarrer les chronomètres. Pour deux postes de prélèvement de sang, séparer les souris de 2 minutes. Mesurer la glycémie à 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 et 180 minutes si la valeur n'est pas redescendue.

Souris	Poids	Volume à injecter (insuline)	Volume à injecter (glucose)	Glycémie								
				0	15	30	45	60	90	120	180	

Mesure de l'activité de la citrate synthase

La citrate synthase catalyse la formation de citrate à partir d'oxaloacetate et d'AcétylCoenzymeA selon la réaction suivante :



La mesure de l'apparition de groupe –SH libre lors de la formation de CoA-SH selon la technique décrite par Srere (1969) permet de doser la citrate synthase. Les groupes –SH sont mesurés grâce à l'utilisation de 5,5' –dithiobis-(2-nitrobenzoate) (DNTB) selon la réaction:



Cette réaction est suivie par l'absorption du TNB à 412 nm ($\epsilon_{412\text{nm}}=13.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Matériel : Cupules de 1,5mL et 2mL, tube de 10 mL, béchers, spectrophotomètre, tiges d'agitation (Dominique Dutscher 391100), cuves plastiques.

Préparation : Les solutions de Tris HCl, de Triton, d'AcétylCoA, d'Oxaloacetate et de DTNB sont à préparer en amont de l'expérimentation.

- **Tampon TRIS HCl à 1M pH 8.0 (50 mL) :**

Peser 6.057 g TRIS base ajouter 45 mL d'eau mQ puis ajouter 4 mL d' HCl 37 %.
Ajuster le pH à 8.0 puis compléter à 50 mL avec de l'eau milliQ.

- **Triton X100 1% :**

Dans un tube de 50 mL prendre 4 mL de Triton X et ajouter 36 mL d'eau milliQ.
Diluer au 1/10^{ème} pour le dosage : Triton X100 1%. Préparer un mélange Triton X100 1% + H₂O (69 mL d'H₂O + 10 mL de Triton 10%).

- **AcétylCoA 10 mM :**

Reprendre 25 mg d'AcétylCoA dans 3 mL d'eau milliQ. Diluer au 1/10^{ème} pour le dosage : AcétylCoA 1 mM.

- **Oxaloacetate 10 mM :**

La solution est à préparer extemporanément et à garder dans la glace.

Peser 6,6 mg d'acide oxaloacétique pour 5 mL d'eau milliQ.

- **DNTB 1mM :**

La solution est à préparer extemporanément. Elle est sensible à la lumière et nécessite de placer un papier aluminium autour du tube.

Peser 4 mg de DNTB pour 10 mL de tampon Tris.

Déroulement : Le dosage de l'activité de la citrate synthase est réalisé à partir des échantillons de muscles solubilisés utilisés pour le dosage des protéines et dont les concentrations sont connues.

Faire le blanc du spectrophotomètre en utilisant de l'eau milliQ dans une cuve référence. Préparer les cuves échantillons en ajoutant 790 µL d'H₂O / Triton X100 1%, puis 100 µL d'AcétylCoA 1mM et 100 µL de DNTB 1mM. Ajouter 5 à 20 µL d'échantillon et laisser incuber une minute à 37°C. Ajouter 10 µL d'oxaloacétate 10 mM dans la cuve référence et dans la cuve échantillon. Lire la cinétique à 37 °C après un délai de 20 secondes pendant 30 secondes à 1 minute à 412 nm. Garder la même cuve référence pour tous les échantillons.

$$\text{Calculer l'activité en mU/mg protéine} = \frac{\text{DO/min} \times 1000 \times \text{volume final dans la cuve } [\mu\text{L}]}{13.6 \times \text{volume d'échantillon } [\mu\text{L}] \times \text{protéine } [\mu\text{g}/\mu\text{L}]}$$

Fiche méthodologique #10 : Mesure de la contractilité *ex-vivo*

Préparation des solutions

La veille de l'expérimentation, préparer 500 mL de tampon de respiration constituant la solution mère 10X. La solution mère 10X se conserve 2 à 3 semaines à 4°C.

Réactifs	Concentration molaire	Masse molaire	Quantité à peser
NaCl	119 mM	58.4 g/mol	34.748 g
KCl	5 mM	74.5 g/mol	1.8665 g
CaCl ₂	1.25 mM	147.2 g/mol	0.92 g
MgSO ₄	1 mM	120.4 g/mol	0.602 g
KH ₂ PO ₄	1 mM	136.09 g/mol	0.6805 g

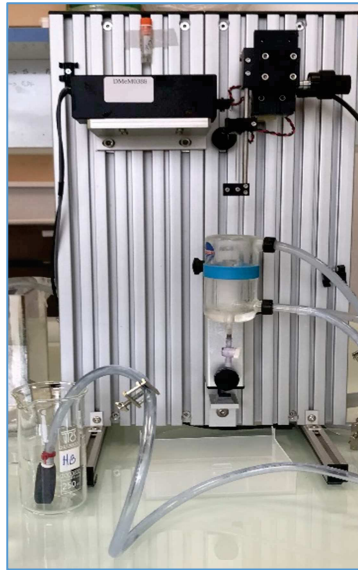
Après avoir pesé tous les réactifs, transférer le tout dans une éprouvette et ajuster le volume à 500 mL avec de l'eau distillée. Le jour de l'expérimentation, préparer le tampon de respiration ou solution fille 1X. Le pH de la solution fille varie et la solution ne se conserve ainsi pas plus d'une demi-journée.

Réactifs	Concentration molaire	Masse molaire	Quantité à peser
Glucose	10 mM	180.2 g/mol	0.4505 g
NaHCO ₃	25 mM	84.01 g/mol	0.525 g
Mannitol	1.1 mM	182.17 g/mol	0.0501 g

Après avoir pesé tous les réactifs, transférer le tout dans une éprouvette de 250 mL, ajouter 25 mL de solution mère 10X et ajuster à 250 mL avec de l'eau distillée. Conserver la solution fille à 4°C pendant le montage de l'appareil de contractilité.

Montage de l'appareil et démarrage du système

Remplir le bain-marie au 2/3 avec de l'eau courante, régler la température à 25°C, placer le thermomètre et ouvrir le clamp menant jusqu'à la cuve. Allumer le système Aurora Dual-Mode Lever System et l'ordinateur puis mettre en route le programme « **DMC v.5.300** ».



Appareil de contractilité Aurora 800A

Remplir la cuve et l'erenmeyer avec la solution fille. Placer le bulleur à l'intérieur de l'erenmeyer et fermer les clamps de l'arrivée de gaz au niveau de la cuve et de l'erenmeyer. Ouvrir la bonbonne de carbogène (oxygène avec 5% de CO₂). Ouvrir doucement les clamps jusqu'à voir de fines bulles de gaz remonter de façon régulière. L'équilibrage de la solution fille prend 15 minutes.

Dans le logiciel, sélectionner « **Protocol Edition** », « **Open Protocol** » puis « **Load Protocol** ». Allumer le stimulateur par le bouton « **ON** » au moment de la mesure.

Dissection et montage du muscle

Préparer 8 fils non extensibles d'une longueur de 16 à 17 cm, et préparer un nœud d'attache à l'extrémité de 4 d'entre eux. Après dislocation cervicale de la souris, procéder au test de pincement de la patte. Enlever la peau de la patte et dégager les muscles. Seuls les muscles présentant des tendons assez longs aux extrémités distales et proximales peuvent être utilisés en contractilité *ex-vivo*. Chez la souris, on prend généralement l'EDL, de type rapide, et le soléaire à prédominance lente.

Une fois les muscles de la face antérieure visibles, individualiser le tibialis et le retirer pour visualiser l'EDL. Individualiser délicatement le muscle des tissus qui l'entourent et placer un fil sous chaque tendon. Attacher le fil simple et le fil avec nœud au tendon, le plus proche possible de la jonction myotendineuse mais en prenant garde de ne pas abîmer le muscle. Pour le soléaire, après individualisation des gastrocnémiens, couper le tendon d'Achille et lever les muscles encore reliés par leur extrémité proximale. Une fois le soléaire visible, attacher un premier fil sur le tendon encore en place avant d'attacher l'autre fil sur l'extrémité distale.

Pour être conservés le temps de la manipulation, les muscles peuvent être placés dans l'erlenmeyer. Le montage d'un muscle dans la cuve de contractilité requiert d'abord l'attache du nœud en haut du système. Le second fil peut alors être passé dans la mâchoire avant de sécuriser le dispositif en serrant la vis. Vérifier le montage et baisser le système jusqu'à la cuve. Ajuster le muscle à sa longueur optimale et laisser 5 minutes d'équilibrage avant de lancer le protocole de contractilité.



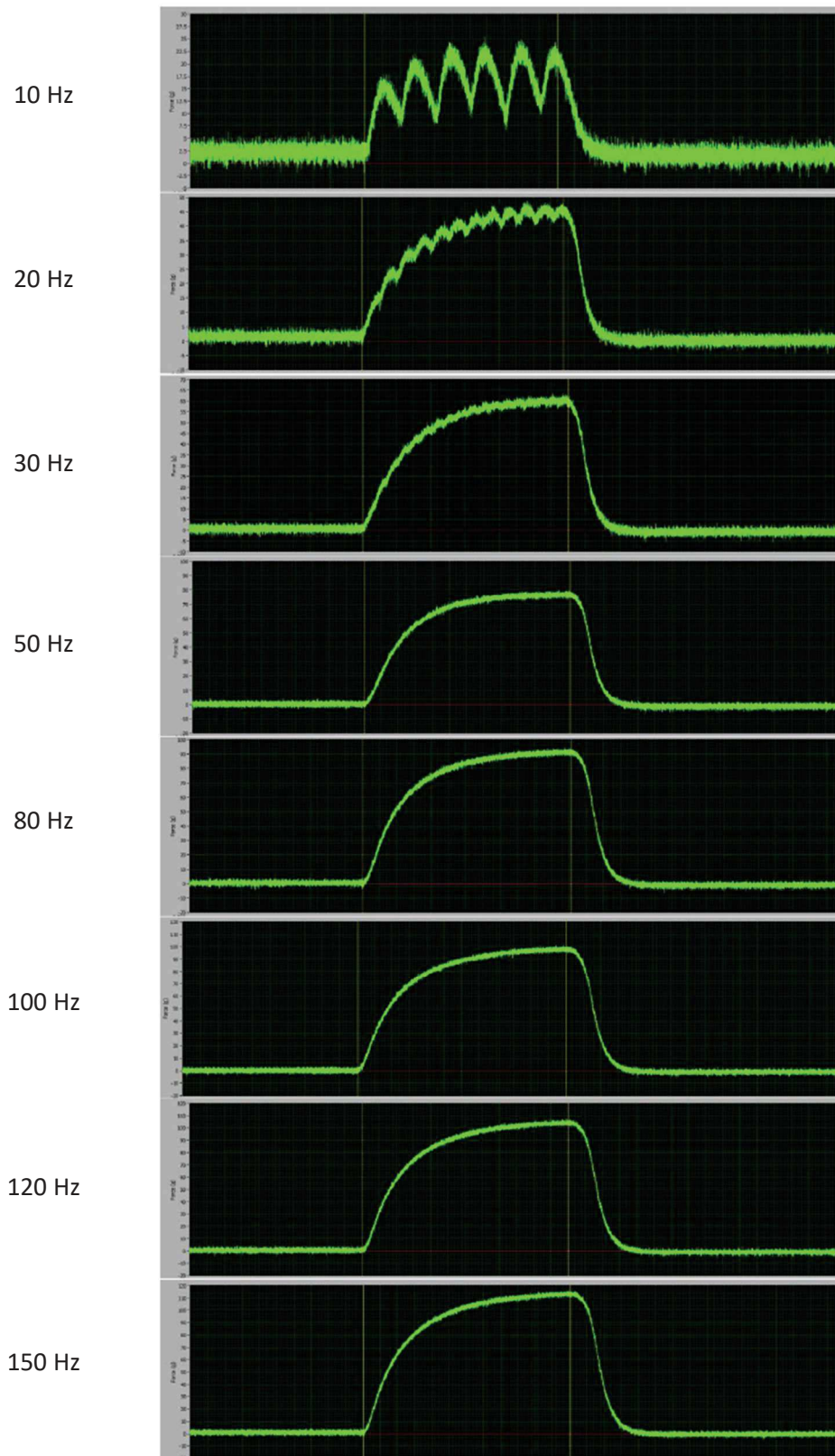
Montage de l'EDL dans la cuve

Propriétés contractiles

L'étude des propriétés contractiles fait en premier appel à un protocole permettant d'établir la relation force-fréquence du muscle par stimulation incrémentale.

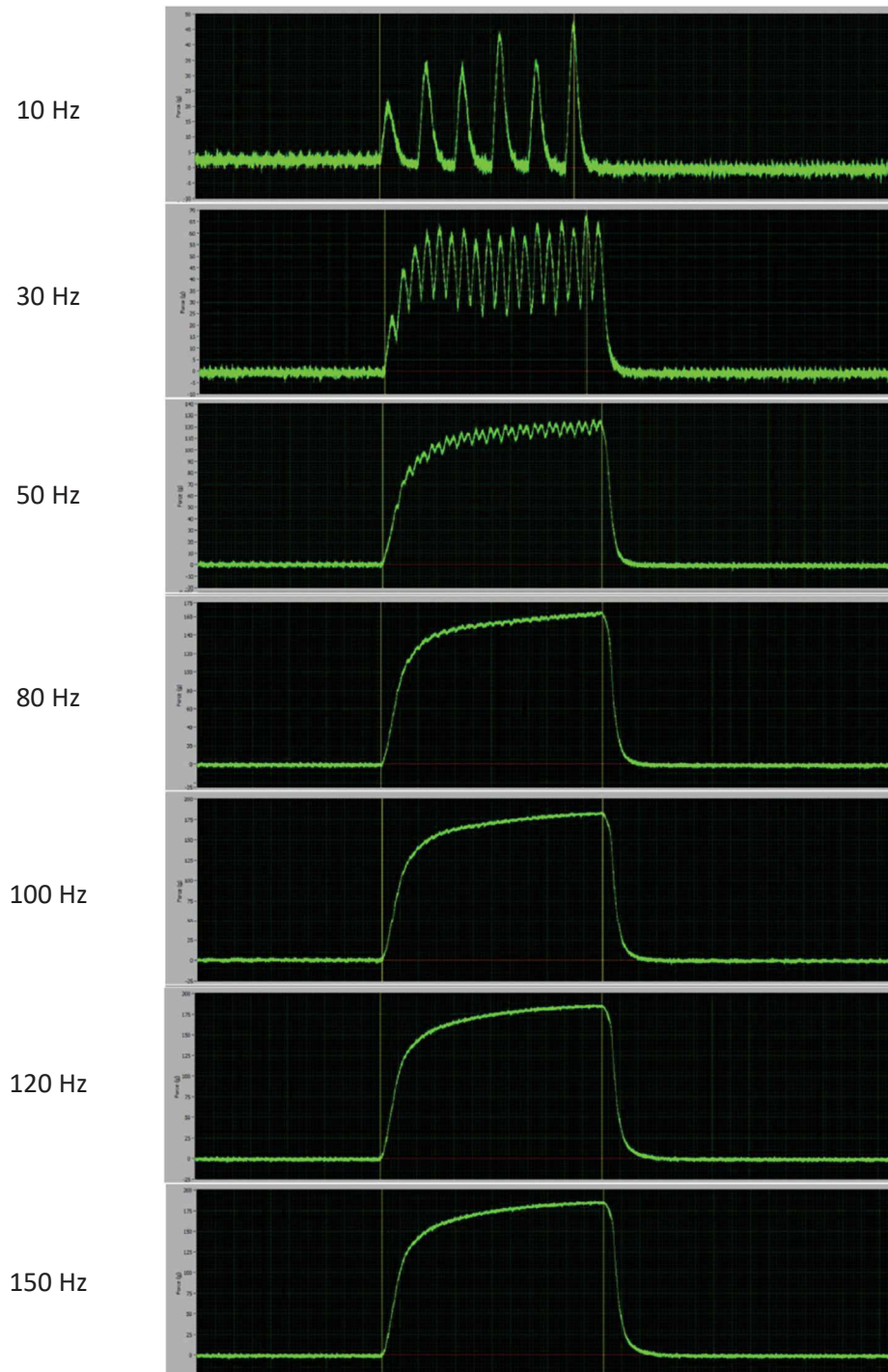
Protocole	Fréquence
Force fréquence	10 Hz
	20 Hz
	30 Hz
	50 Hz
	80 Hz
	100 Hz
	120 Hz
	150 Hz
3 minutes de récupération	
Fatigue	50 Hz
5 minutes de récupération	
Post-fatigue	150 Hz
	120 Hz

Le logiciel DMC permet d'obtenir les courbes de montée en force pour chaque fréquence.



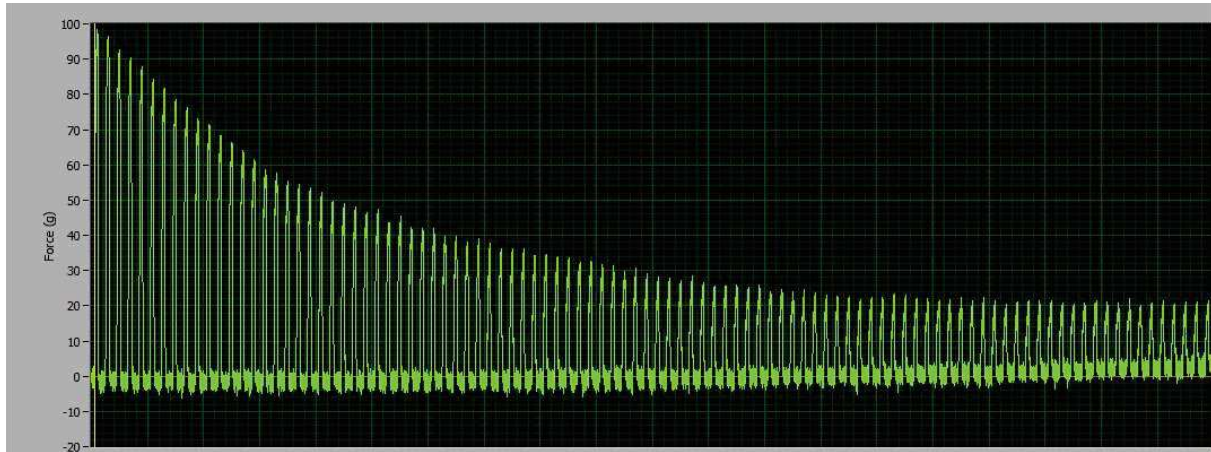
Courbes de montée en force pour chaque fréquence de stimulation obtenues pour un muscle soléaire

La force maximale obtenue pour chaque fréquence permet d'établir la relation force-fréquence pour le soléaire et l'EDL.

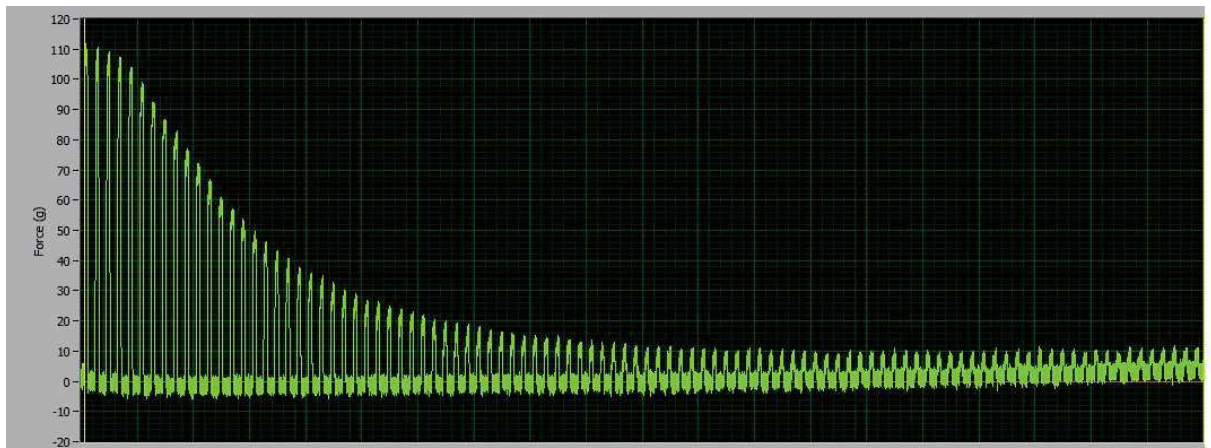


Courbes de montée en force pour chaque fréquence de stimulation obtenues pour un muscle EDL

Après récupération, le muscle est ensuite soumis à un protocole de fatigue de 5 minutes. Deux contractions aux plus grandes fréquences peuvent être réalisées après récupération pour rendre compte des capacités du muscle en post-fatigue.



Courbe de suivi de la force au cours du protocole de fatigue à 80 Hz obtenues pour un muscle soléaire



Courbe de suivi de la force au cours du protocole de fatigue à 50 Hz obtenues pour un muscle EDL

Le temps requis pour diminuer de 50% la force initiale du muscle (F50%) peut être utilisé pour jauger de la résistance à la fatigue d'un muscle.

Liste des amorces et anticorps utilisés

L'efficacité des amorces utilisées pour la PCR en temps réel a d'abord été testée. Les amorces ont été sélectionnées dès lors que leur efficacité était supérieure à 85%. Les amorces utilisées pour la PCR en temps réel sont décrites dans le tableau 1.

PRIMER	FORWARD	REVERSE
ATP SYNTHASE	GGTTCATCCTGCCAGAGACTA	AATCCCTCATCGAACTGGAC
COX IV	ATGTCACGATGCTGTCTGCC	GTGCCCTGTTCATCTCGGC
GLUT4	GTGACTGGAACACTGGTCCTA	CCAGCCACGTTGCATTGTAG
HEXOKINASE II	GGAACCGCCTAGAAATCTCC	GGAGCTCAACCAAACCAAG
MITOFUSINE 1	TCTCTCCATGTGCTGTCTGC	TCTCCAAGCCCAACATCTTC
MITOFUSINE 2	GGTGGTATGACCAATCCCAG	TCCAAGGTCAGGGGTATCAG
UCP3	TACCCAACCTTGCTAGACG	GTCCGAGGAGAGAGCTTGC
RPS9	CGGCCCGGGAGCTGTTGACG	CTGCTTGCGGACCCTAATGT

Pour le génotypage des souris transgéniques, deux couples d'amorces sont utilisés pour amplifier un fragment de 324pb correspondant à la forme sauvage et un fragment de 212pb correspondant à la forme transgénique de eIF3f. Les séquences associées sont décrites dans le tableau 2.

AMORCE	SEQUENCE
eIF3f sens	CAGAAGATGAAGTGGCTGTTG
eIF3f reverse	CTGTAATACAGTGCTTAGA
eIF3f s6 sens dans l'exon 6	CAACCGGGTGATTGGACTCTCAA
eIF3f r7 reverse dans l'exon 7	GCTGTTGAGCATGGTCTCAA

Les anticorps primaires utilisés en Western Blot sont décrits dans le tableau 3.

ANTICORPS	FOURNISSEUR	REFERENCE	ESPECE SOURCE
4EBP1	CELL SIGNALING TECHNOLOGY	9452	LAPIN
β-ACTINE	SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY	SC-81178	LAPIN
CDK4	SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY	SC-260	LAPIN
EIF3F	BETHYL LABORATORIES	A303-005A	LAPIN
GLUT4	ALPHA-DIAGNOSTIC	GT41-A	LAPIN
PGC-1α	ABCAM	54481	LAPIN
PUROMYCINE	MILLIPORE	MABE343	SOURIS
S6	CELL SIGNALING TECHNOLOGY	2317	SOURIS
PHOSPHO-S6	CELL SIGNALING TECHNOLOGY	5364	LAPIN
S6K1	SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY	SC-230	LAPIN
PHOSPHO-S6K1	CELL SIGNALING TECHNOLOGY	9206	LAPIN
UBIQUITINE	SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY	SC-8017	SOURIS
UCP3	MILLIPORE	AB3044	LAPIN

Les anticorps secondaires utilisés en Western Blot sont décrits dans le tableau 4.

ANTICORPS	FOURNISSEUR	REFERENCE
LAPIN	PIERCE ROCKFORD	1858415
SOURIS	PIERCE ROCKFORD	1858413

RÉFÉRENCES

- A -

1. **Aagaard P, Andersen JL** (2010) Effects of strength training on endurance capacity in top-level endurance athletes. *Scand. J. Med. Sci. Sport.* 20:39–47
2. **Aagaard P, Andersen JL, Bennekou M, et al.** (2011) Effects of resistance training on endurance capacity and muscle fiber composition in young top-level cyclists. *Scand. J. Med. Sci. Sport.* 298–307
3. **Aagaard P, Simonsen EB, Andersen JL, et al.** (2000) Neural inhibition during maximal eccentric and concentric quadriceps contraction : effects of resistance training. *J. Appl. Physiol.* 2249–2257
4. **Abbott BC, Bigland B, Ritchie JM** (1952) The physiological cost of negative work. *J. Physiol.* 117:380–390
5. **Abe Y, Matsunaga A, Matsuzawa R, et al.** (2016) Evaluating the association between walking speed and reduced cardio-cerebrovascular events in hemodialysis patients : a 7-year cohort study. *Ren. Replace. Ther.* 1–8
6. **Adey D, Kumar R, McCarthy JT, et al.** (2000) Reduced synthesis of muscle proteins in chronic renal failure. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 219–225
7. **Ahonen RE** (1980) Striated Muscle Ultrastructure in Uremic Patients and in Renal Transplant Recipients. *Acta Neuropathol.* 166:163–166
8. **Ahtiainen JP, Walker S, Peltonen H, et al.** (2016) Heterogeneity in resistance training-induced muscle strength and mass responses in men and women of different ages. *Age (Omaha).*
9. **Albracht K, Arampatzis A** (2013) Exercise-induced changes in triceps surae tendon stiffness and muscle strength affect running economy in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 1605–1615
10. **Alvaro C De, Teruel T, Hernandez R, et al.** (2004) Tumor Necrosis Factor alpha Produces Insulin Resistance in Skeletal Muscle by Activation of Inhibitor kB Kinase in a p38 MAPK-dependent Manner. *J. Biol. Chem.* 279:17070–17078
11. **Alway SE, MacDougall JD, Sale DG, et al.** (1988) Functional and structural adaptations in skeletal muscle of trained athletes. *J. Appl. Physiol.*
12. **Andersen JL, Klitgaard H, Saltin B** (1994) Myosin heavy chain isoforms in single fibres from m. vastus lateralis of sprinters : influence of training. *Acta Physiol. Scand.* 135–142
13. **Anding K, Bär T, Trojniak-Hennig J, et al.** (2015) A structured exercise programme during haemodialysis for patients with chronic kidney disease: Clinical benefit and long-term adherence. *BMJ Open* 5:1–9
14. **Aniansson A, Hedberg M, Gull-Britt H, et al.** (1986) Muscle morphology, enzymatic activity, and muscle strength in elderly men: a follow-up study. *Muscle Nerve* 585–591
15. **Anker SD, Morley JE, Haehling S Von** (2016) Welcome to the ICD-10 code for sarcopenia. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* 512–514
16. **Aoike DT, Baria F, Leister Rocha M, et al.**

- (2012) Impact of training at ventilatory threshold on cardiopulmonary and functional capacity in overweight patients with chronic kidney disease. *J. Bras. Nefrol.*
17. **Arampatzis A, Monte G De, Karamanidis K, et al.** (2006) Influence of the muscle – tendon unit ' s mechanical and morphological properties on running economy. *J. Exp. Biol.* 3345–3357
- B -
18. **Barcellos FC, Santos IS, Umpierre D, et al.** (2015) Effects of exercise in the whole spectrum of chronic kidney disease: A systematic review. *Clin. Kidney J.* 8:753–765
19. **Baria F, Kamimura MA, Avesani CM, et al.** (2011) Activity-related Energy Expenditure of Patients Undergoing Hemodialysis. *J. Ren. Nutr.* 21:226–234
20. **Barnes KR, Mcguigan MR, Kilding AE** (2014) Lower-Body Determinants of Running Economy in Male and Female Distance Runners. *J. Strength Cond. Res.* 28:1289–1297
21. **Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, et al.** (1998) Epidemiology of Sarcopenia among the Elderly in New Mexico. *Am. J. Epidemiol.* 147:755–763
22. **Bazgir B, Ph D, Fathi R, et al.** (2017) Satellite Cells Contribution to Exercise Mediated Muscle Hypertrophy and Repair. *Cell Journal.* 18:473–484
23. **Bean JF, Leveille SG, Kiely DK, et al.** (2003) A Comparison of Leg Power and Leg Strength Within the InCHIANTI Study : Which Influences Mobility More ? *J. Gerontol.* 58A:728–733
24. **Ben-Sahra I, Manning BD** (2017) mTORC1 signaling and the metabolic control of cell growth. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 72–82
25. **Bennett P** (2010) How a culture of exercise benefits patients on dialysis. *J. Ren. Nurs.*
26. **Bentzinger CF, Lin S, Romanino K, et al.** (2013) Differential response of skeletal muscles to mTORC1 signaling during atrophy and hypertrophy. *Skelet. Muscle* 3:6
27. **Bentzinger CF, Romanino K, Cloëtta D, et al.** (2008) Skeletal Muscle-Specific Ablation of raptor, but Not of rictor, Causes Metabolic Changes and Results in Muscle Dystrophy. *Cell Metab.* 8:411–424
28. **Besson D, Joussain C, Gremeaux V, et al.** (2013) Eccentric training in chronic heart failure : Feasibility and functional effects . Results of a comparative study. *Ann. Phys. Rehabil. Med.* 56:30–40
29. **Bhatti JS, Bhatti GK, Reddy PH** (2017) Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders — A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* 1863:1066–1077
30. **Biddle SJH, Gorely T, Marshall SJ, et al.** (2004) Physical activity and sedentary behaviours in youth: issues and controversies. *J. R. Soc. Promot. Health*
31. **Bish LT, Morine KJ, Sleeper MM, et al.** (2010) Myostatin Is Upregulated Following Stress in an Erk-Dependent Manner and Negatively Regulates Cardiomyocyte Growth in Culture and in a Mouse Model. *PLoS One*
32. **Biswas A, Oh PI, Faulkner GE, et al.** (2015) Sedentary Time and Its Association With Risk for Disease Incidence, Mortality, and Hospitalization in Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann. Intern. Med.*
33. **Di Blasio A, Gemello E, Di Iorio A, et al.** (2012) Order effects of concurrent endurance and

- resistance training on post-exercise response of non-trained women. *J. Sport. Sci. Med.* 393–399
34. **Bodine SC** (2013) Disuse-induced muscle wasting. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45:2200–2208
35. **Bodine SC, Baehr LM** (2014) Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. *Am. J. Endocrinol. Metab.*
36. **Bohannon RW, Smith J, Hull D, et al.** (1995) Deficits in Lower Extremity Muscle and Gait Performance Among Renal Transplant Candidates. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 76
37. **Bonaldo P, Sandri M** (2013) Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis. Model. Mech.* 6:25–39
38. **Borg G** (1982) Psychophysical bases of Perceived Exertion. *Med. Sci. Sports Exerc.* 14:377–381
39. **Borghouts LB, Keizer HA** (1999) Exercise and Insulin Sensitivity : A Review. *Int. J. Sport. Med.*
40. **Borja-Gonzalez M, Casas-Martinez JC, McDonagh B, et al.** (2020) Inflammation-miR-21 Negatively Regulates Myogenesis during Ageing. *Antioxydants*
41. **Bouchard C, An P, Rice T, et al.** (1999) Familial aggregation of VO₂max response to exercise training : results from the HERITAGE Family Study. *J. Appl. Physiol.* 3–8
42. **Bouchard C, Rankinen T** (2001) Individual differences in response to regular physical activity. *Med. Sci. Sports Exerc.*
43. **Brioché T, Pagano AF, Py G, et al.** (2016) Muscle wasting and aging : Experimental models, fatty infiltrations, and prevention. *Mol. Aspects Med.* 50:56–87
44. **Brocca L, Toniolo L, Reggiani C, et al.** (2017) FoxO-dependent atrogenes vary among catabolic conditions and play a key role in muscle atrophy induced by hindlimb suspension. *J. Physiol.* 1–31
45. **Brown M, Sinacore D, Host H** (1995) The relationship of strength to function in the older adult. *Journals Gerontol. Ser. A* 50:55–59
46. **Bruceckner D, Kiss R, Muehlbauer T** (2018) Associations Between Practice-Related Changes in Motor Performance and Muscle Activity in Healthy Individuals : A Systematic Review. *Sport. Med.*
47. **Brunello E, Reconditi M, Elangovan R, et al.** (2007) Skeletal muscle resists stretch by rapid binding of the second motor domain of myosin to actin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104:20114–20119
48. **Brunet A, Kanai F, Stehn J, et al.** (2002) IGF-1 transits to the nucleus and participates in dynamic nucleocytoplasmic transport. *J. Cell Biol.* 817–828
49. **Burd NA, West DWD, Staples AW, et al.** (2010) Low-Load High Volume Resistance Exercise Stimulates Muscle Protein Synthesis More Than High-Load Low Volume Resistance Exercise in Young Men. *PLoS One* 5
50. **Byrne C, Faure C, Keene DJ, et al.** (2016) Ageing , Muscle Power and Physical Function : A Systematic Review and Implications for Pragmatic Training Interventions. *Sport. Med.*
- C -
51. **Cadore EL, Izquierdo M** (2019) Concurrent Training in Elderly. 277–291
52. **Cadore EL, Izquierdo M, Alberton CL, et al.** (2012) Strength prior to endurance intra-session exercise sequence optimizes

- neuromuscular and cardiovascular gains in elderly men. *Exp. Gerontol.* 47:164–169
53. **Cadore EL, Izquierdo M, Pinto SS, et al.** (2013) Neuromuscular adaptations to concurrent training in the elderly : effects of intrasession exercise sequence. *Age (Omaha)*. 891–903
54. **Cadore EL, Pinto RS, Bottaro M, et al.** (2014) Strength and Endurance Training Prescription in Healthy and Frail Elderly. *Aging and Disease*. 5:183–195
55. **Cadore EL, Pinto RS, Lhullier FLR, et al.** (2010) Physiological Effects of Concurrent Training in Elderly Men. *Int. J. Sport. Med.*
56. **Cai D, Frantz JD, Tawa NE, et al.** (2004) IKKB/NF- κ B Activation Causes Severe Muscle Wasting in Mice. *Cell* 119:285–298
57. **Cambois E, Blachier A, Robine J** (2012) Aging and health in France : an unexpected expansion of disability in mid-adulthood over recent years. *Eur. J. Public Health* 23:575–581
58. **Canaud B, Valle AG, Molinari N, et al.** (2014) Creatinine Index as a Surrogate of Lean Body Mass Derived from Urea Kt/V , Pre-Dialysis Serum Levels and Anthropometric Characteristics of Haemodialysis Patients. *PLoS One*
59. **Chaillou T, Kirby TJ, Mccarthy JJ** (2016) Ribosome biogenesis: emerging evidence for a central role in the regulation of skeletal muscle mass. *J. Cell. Physiol.* 229:1584–1594
60. **Chapman AR, Vicenzino B, Blanch P, et al.** (2008) Patterns of leg muscle recruitment vary between novice and highly trained cyclists. *J. Electromyogr. Kinesiol.* 18:359–371
61. **Chasland LC, Green DJ, Maiorana AJ, et al.** (2017) Eccentric Cycling : A Promising Modality for Patients with Chronic Heart Failure. *Med Sci Sports Exerc.* 646–651
62. **Chastin SFM, Ferriollo E, Stephens NA, et al.** (2011) Relationship between sedentary behaviour, physical activity, muscle quality and body composition in healthy older adults. *Age Ageing* 111–114
63. **Chastin SFM, Granat MH** (2010) Methods for objective measure, quantification and analysis of sedentary behaviour and inactivity. *Gait Posture* 31:82–86
64. **Chen TC, Tseng W, Huang G, et al.** (2017) Superior Effects of Eccentric to Concentric Knee Extensor Resistance Training on Physical Fitness, Insulin Sensitivity and Lipid Profiles of Elderly Men. *Front. Physiol.* 8:1–11
65. **Chetta A, Zanini A, Pisi G, et al.** (2006) Reference values for the 6-min walk test in healthy subjects 20 – 50 years old. *Respir. Med.* 1573–1578
66. **Cho SH, Kim JH, Song W** (2016) In Vivo Rodent Models of Skeletal Muscle Adaptation to Decreased Use. *Endocrinol. Metab.* 31:31–7
67. **Cibulka R, Racek J** (2007) Metabolic disorders in patients with chronic kidney failure. *Physiol. Res.* 56:697–705
68. **Clark BC, Manini TM** (2008) Sarcopenia \neq Dynapenia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 63:829–834
69. **Clark BC, Manini TM, Bolanowski SJ, et al.** (2006) Adaptations in human neuromuscular function following prolonged unweighting : II. Neurological properties and motor imagery efficacy. *J. Appl. Physiol.* 45701:264–272
70. **Clarke BA, Drujan D, Willis MS, et al.** (2007) The E3 Ligase MuRF1 Degrades Myosin Heavy Chain Protein in Dexamethasone-Treated Skeletal Muscle. *Cell Metab.* 2:376–385
71. **Clarkson MJ, Bennett PN, Fraser SF, et al.** (2019) Exercise Interventions for Improving

- Objective Physical Function in End-Stage Kidney Disease Patients on Dialysis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Physiol.*
72. **Clegg A, Young J, Iliffe S, et al.** (2014) Frailty in Older People. *Lancet* 381:752–762
73. **Clos P, Lepers R** (2020) Leg Muscle Activity and Perception of Effort before and after Four Short Sessions of Submaximal Eccentric Cycling. *Int. J. Environ. Res. Public Health*
74. **Cobo G, Gallar P, Cristina TG, et al.** (2014) Clinical determinants of reduced physical activity in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *J. Nephrol.*
75. **Coen PM, Jubrias SA, Distefano G, et al.** (2013) Skeletal Muscle Mitochondrial Energetics Are Associated With Maximal Aerobic Capacity and Walking Speed in Older Adults. *J. Gerontol.* 68:447–455
76. **Coggan AR, Spina RJ, King DS, et al.** (1992) Histochemical and Enzymatic Comparison of the Gastrocnemius Muscle of Young and Elderly Men and Women. *J. Gerontol.* 47:71–76
77. **Cohen S, Nathan JA, Goldberg AL** (2015) Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. *Nat. Rev. Drug Discov.* 14:58–74
78. **Cong H, Sun L, Liu C, et al.** (2011) Inhibition of Atrogin-1/MAFbx Expression by Adenovirus-Delivered Small Hairpin RNAs Attenuates Muscle Atrophy in Fasting Mice. *Hum. Gene Ther.* 324:313–324
79. **Cook WL, Tomlinson G, Donaldson M, et al.** (2006) Falls and Fall-Related Injuries in Older Dialysis Patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 1:1197–1204
80. **Cordain L, Gotshall RW, Boyd Eaton S, et al.** (1998) Physical Activity, Energy Expenditure and Fitness: An Evolutionary Perspective. *Int. J. Sport. Med.* 19:328–335
81. **Van Craenenbroeck AH, Van Craenenbroeck EM, Van Ackeren K, et al.** (2016) Impaired vascular function contributes to exercise intolerance in chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 31:2064–2072
82. **Cramer RM, Langberg H, Magnusson P, et al.** (2004) Changes in satellite cells in human skeletal muscle after a single bout of high intensity exercise. *J. Physiol.* 1:333–340
83. **Crowe A V, McArdle A, McArdle F, et al.** (2007) Markers of oxidative stress in the skeletal muscle of patients on haemodialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1177–1183
84. **Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, et al.** (2010) Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 412–423
85. **Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer JM, et al.** (2019) Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* 16–31
86. **Csibi A, Cornille K, Leibovitch MP, et al.** (2010) The translation regulatory subunit eIF3f controls the kinase-dependent mTOR signaling required for muscle differentiation and hypertrophy in mouse. *PLoS One*
87. **Csibi A, Leibovitch MP, Cornille K, et al.** (2009) MAFbx/Atrogin-1 controls the activity of the initiation factor eIF3-fin skeletal muscle atrophy by targeting multiple C-terminal lysines. *J. Biol. Chem.* 284:4413–4421
88. **Csibi A, Tintignac LA, Leibovitch MP, et al.** (2008) eIF3-f function in skeletal muscles: To stand at the crossroads of atrophy and

- hypertrophy. *Cell Cycle* 7:1698–1701
89. **Cui G, Park S, Badeaux AI, et al.** (2012) PHF20 is an effector protein of p53 double lysine methylation that stabilizes and activates p53. *Nat. Publ. Gr.* 19:916–924
- D -
90. **Dao T, Green AE, Kim YA, et al.** (2020) Review Article Sarcopenia and Muscle Aging : A Brief Overview. *Endocrinol. Metab.* 716–732
91. **Degens H, Erskine RM, Morse CI** (2008) Disproportionate changes in skeletal muscle strength and size with resistance training and ageing. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.*
92. **Deger SM, Hung AM, Gamboa JL, et al.** (2017) Systemic inflammation is associated with exaggerated skeletal muscle protein catabolism in maintenance hemodialysis patients. *JCI Insight*
93. **Dela F, Handberg A, Mikines KJ, et al.** (1993) Glut 4 and insulin receptor binding and kinase activity in trained human muscle. *J. Physiol.* 615–624
94. **Deldicque L, Francaux M** (2016) Potential harmful effects of dietary supplements in sports medicine. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 439–445
95. **DeOreo PB** (1997) Hemodialysis Patient - Assessed Functional Health Status Predicts Continued Survival, Hospitalization, and Dialysis-Attendance Compliance. *Am. J. Kidney Dis.* 30:204–212
96. **Desmet C, Beguin C, Swine C, et al.** (2005) Falls in Hemodialysis Patients : Prospective Study of Incidence, Risk Factors, and Complications. *Am. J. Kidney Dis.* 45:148–153
97. **Diaz KM, Howard VJ, Hutto B, et al.** (2017) Patterns of Sedentary Behavior and Mortality in U.S. Middle-Aged and Older Adults: A National Cohort Study. *Ann. Intern. Med.*
98. **Dickinson JM, Volpi E, Rasmussen BB** (2013) Exercise and nutrition to target protein synthesis impairments in aging skeletal muscle. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 41:216–223
99. **Diesel W, Noakes TD, Swanepoel C, et al.** (1990) Isokinetic Muscle Strength Predicts Maximum Exercise Tolerance in Renal Patients on Chronic Hemodialysis. *Am. J. Kidney Dis.* 16:109–114
100. **Dogra C, Changotra H, Wedhas N, et al.** (2007) TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) is a potent skeletal muscle-wasting cytokine. *FASEB J.* 21:1857–1869
101. **Doherty TJ** (2003) Aging and sarcopenia. *J. Appl. Physiol.* 1717–1727
102. **Ducomps C, Mauriège P, Darche B, et al.** (2003) Effects of jump training on passive mechanical stress and stiffness in rabbit skeletal muscle: role of collagen. *Acta Physiol. Scand.* 178:215–224
- E -
103. **Earnest CP, Rothschild J, Harnish CR, et al.** (2018) Metabolic adaptations to endurance training and nutrition strategies influencing performance strategies influencing performance. *Res. Sport. Med.* 00:1–13
104. **Ebert SM, Al-Zougbi A, Bodine SC, et al.** (2019) Skeletal Muscle Atrophy : Discovery of Mechanisms and Potential Therapies. *Physiology* 1:232–239
105. **Eddens L, van Someren K, Howatson G** (2017) The Role of Intra-Session Exercise Sequence in the Interference Effect : A Systematic Review with Meta-Analysis. *Sport. Med.*
106. **Efeyan A, Zoncu R, Chang S, et al.** (2013) Rag

- GTPase-mediated regulation of mTORC1 by nutrients is necessary for neonatal autophagy and survival. *Nature* 493:679–683
107. **Eklund D, Pulverenti T, Bankers S, et al.** (2015) Neuromuscular Adaptations to Different Modes of Combined Strength and Endurance Training. *Int. J. Sport. Med.* 120–129
108. **Eklund D, Schumann M, Kraemer WJ, et al.** (2016) Acute Endocrine and Force Responses and Long-Term Adaptations to Same-Session Combined Strength and Endurance Training in Woman. *J. Strength Cond. Res.* 164–175
109. **Elmer SJ, Danvind J, Holmberg H-C** (2012) Development of a Novel Eccentric Arm Cycle Ergometer for Training the Upper Body. *Med. Sci. Sports Exerc.* 206–211
110. **Elmer SJ, Hahn S, Mcallister P, et al.** (2012) Improvements in multi-joint leg function following chronic eccentric exercise. *Scand. J. Med. Sci. Sport.* 653–661
111. **Elmer SJ, Madigan ML, Lastayo PC, et al.** (2010) Clinical Biomechanics Joint-specific power absorption during eccentric cycling. *Clin. Biomech.* 25:154–158
112. **Enoki Y, Watanabe H, Arake R, et al.** (2016) Indoxyl sulfate potentiates skeletal muscle atrophy by inducing the oxidative stress-mediated expression of myostatin and atrogen-1. *Sci. Rep.* 1–16
113. **Erken E, Ozelsançak R, Sahin S, et al.** (2016) The effect of hemodialysis on balance measurements and risk of fall. *Int. Urol. Nephrol.*
114. **Erskine RM, Jones DA, Maffulli N, et al.** (2011) What causes in vivo muscle specific tension to increase following resistance training? *Exp. Physiol.* 145–155
115. **Erslev AJ, Besarab A** (1997) Erythropoietin in the pathogenesis and treatment of the anemia. *Kidney Int.* 51:622–630
116. **Esbjörnsson M, Sylvén C, Holm I, et al.** (1993) Fast Twitch Fibres May Predict Anaerobic Performance in Both Females and Males. *Int. J. Sport. Med.*
117. **Evans WJ** (2010) Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. *Am. J. Clin. Nutr.* 91:1123–1127
- F -
118. **Fahal IH** (2013) Uraemic sarcopenia: aetiology and implications. *Nephrol. Dial. Transplant.*
119. **Fahal IH, Bell GM, Bone JM, et al.** (1997) Physiological abnormalities of skeletal muscle in dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 119–127
120. **Farthing JP, Chilibeck PD, Binsted G** (2005) Cross-Education of Arm Muscular Strength Is Unidirectional in Right-Handed Individuals. *J. Am. Coll. Sport. Med.*
121. **Faulkner JA, Larkin LM, Claflin DR, et al.** (2007) Age-Related Changes in the Structure and Function of Skeletal Muscles. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1091–1096
122. **Finley D, Bartel B, Varshavsky A** (1989) The tails of ubiquitin precursors are ribosomal proteins whose fusion to ubiquitin facilitates ribosome biogenesis. *Nature*
123. **Flann KL, LaStayo PC, McClain DA, et al.** (2011) Muscle damage and muscle remodeling: no pain, no gain? *J. Exp. Biol.* 214:674–679
124. **Fletcher JR, Esau SP, Macintosh BR** (2010) Changes in tendon stiffness and running economy in highly trained distance runners. *Eur. J. Appl. Physiol.* 1037–1046
125. **Foletta VC, White LJ, Larsen AE, et al.** (2011) The role and regulation of MAFbx/atrogen-1

- and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Eur. J. Physiol.* 325–335
126. **Folland JP, Williams AG** (2007) The adaptations to strength training: Morphological and neurological contributions to increased strength. *Sport. Med.*
127. **Fontecha-Barriuso M, Martin-Sanchez D, Martinez-Moreno JM, et al.** (2020) The Role of PGC-1 α and Mitochondrial Biogenesis in Kidney Diseases. *Biomolecules* 1–24
128. **Fouré A, Nosaka K, Gastaldi M, et al.** (2015) Effects of branched-chain amino acids supplementation on both plasma amino acids concentration and muscle energetics changes resulting from muscle damage: A randomized placebo controlled trial. *Clin. Nutr.* 1–12
129. **Francaux M, Deldicque L** (2018) Exercise and the control of muscle mass in human. *Eur. J. Appl. Physiol.*
130. **Franchi M, Atherton P, Reeves N, et al.** (2014) Architectural, functional and molecular responses to concentric and eccentric loading in human skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.* 642–654
131. **Franchi M, Reeves N, Narici M, et al.** (2017) Skeletal Muscle Remodeling in Response to Eccentric vs. Concentric Loading: Morphological, Molecular, and Metabolic Adaptations. *Front. Physiol.* 8:1–16
132. **Fujita S, Glynn E, Timmerman KL, et al.** (2009) Supraphysiological hyperinsulinemia is necessary to stimulate skeletal muscle protein anabolism in older adults: Evidence of a true age-related insulin resistance of muscle protein metabolism. *Diabetologia*
133. **Gamboa JL, Billings IV FT, Bojanowski MT, et al.** (2016) Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *Physiol. Rep.* 4:1–12
134. **García-Martínez C, Sibille B, Solanes G, et al.** (2001) Overexpression of UCP3 in cultured human muscle lowers mitochondrial membrane potential, raises ATP/ADP ratio, and favors fatty acid versus glucose oxidation. *FASEB J.*
135. **Glass DJ** (2003) Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Nat. Cell Biol.* 5:87–90
136. **Goldspink DF** (1977) The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J Physiol* 264:267–82
137. **Gollie JM, Harris-Love MO, Patel SS, et al.** (2018) Chronic kidney disease: considerations for monitoring skeletal muscle health and prescribing resistance exercise. *Clin. Kidney J.*
138. **Gomes-Duarte A, Lacerda R, Menezes J, et al.** (2018) eIF3: a factor for human health and disease. *RNA Biol.* 15:26–34
139. **Gomes Neto M, de Lacerda FFR, Lopes AA, et al.** (2018) Intradialytic exercise training modalities on physical functioning and health-related quality of life in patients undergoing maintenance hemodialysis: systematic review and meta-analysis. *Clin. Rehabil.*
140. **Goodman CA** (2019) The Role of mTORC1 in Mechanically-Induced Increases in Translation and Skeletal Muscle Mass. *J. Appl. Physiol.*
141. **Goodman CA, Mayhew DL, Hornberger TA** (2011) Recent progress toward understanding the molecular mechanisms that regulate skeletal muscle mass. *Cell. Signal.* 23:1896–1906
142. **Goodpaster BH, Carlson CL, Visser M, et al.**

- G -

- (2001) Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: The Health ABC Study. *J. Appl. Physiol.* 15261:2157–2165
143. **Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, et al.** (2006) The Loss of Skeletal Muscle Strength, Mass, and Quality in Older Adults : The Health, Aging and Body Composition Study. *J. Gerontol.* 61:1059–1064
144. **Gracia-Iguacel C, González-Parra E, Pérez-Gómez MV, et al.** (2013) Prevalence of protein-energy wasting syndrome and its association with mortality in haemodialysis patients in a centre in Spain. *Rev. Nefrol.*
145. **Grandori C, Gomez-Roman N, Felton-Edkins ZA, et al.** (2005) c-Myc binds to human ribosomal DNA and stimulates transcription of rRNA genes by RNA polymerase I. *Nat. Cell Biol.*
146. **Guralnik J, Ferrucci L, Simonsick E, et al.** (1995) Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N. Engl. J. Med.* 332:556–561
147. **Guralnik JM, Simonsick EM, Ferrucci L, et al.** (1994) A short physical performance battery assessing lower extremity function: Association with self-reported disability and prediction of mortality and nursing home admission. *Journals Gerontol.*
148. **Guridi M, Kupr B, Romanino K, et al.** (2016) Alterations to mTORC1 signaling in the skeletal muscle differentially affect whole-body metabolism. *Skelet. Muscle* 1–14
149. **Gutman RA, Stead WW, Robinson RR** (1981) Physical Activity and Employment Status of Patients on Maintenance Dialysis. *N. Engl. J. Med.* 309–313
150. **Habibzadeh N** (2018) Physiology of Distinct Modes of Muscular Contraction. *Int. Physiol. J.* 1:1–8
151. **Hamburg NM, McMackin CJ, Huang AL, et al.** (2007) Physical Inactivity Rapidly Induces Insulin Resistance and Microvascular Dysfunction in Healthy Volunteers. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27:2650–2656
152. **Harris-Love MO, Seamon BA, Gonzales TI, et al.** (2017) Eccentric Exercise Program Design : A Periodization Model for Rehabilitation Applications. *Front. Physiol.* 8:1–16
153. **Haute Autorité de Santé** (2015) Prise en charge des patients hémodialysés chroniques
154. **Hawley JA, Burke LM, Phillips SM, et al.** (2010) Signals Mediating Skeletal Muscle Remodeling by Activity Nutritional modulation of training-induced skeletal muscle adaptations. *J. Appl. Physiol.* 834–845
155. **Hay N** (2011) Interplay between FOXO, TOR, and Akt. *BBA - Mol. Cell Res.* 1813:1965–1970
156. **Hedayatpour N, Falla D** (2015) Physiological and Neural Adaptations to Eccentric Exercise : Mechanisms and Considerations for Training. *Biomed Res. Int.* 2015:1–7
157. **Heiwe S, Jacobson SH** (2014) Exercise Training in Adults With CKD: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.*
158. **Hellsten Y, Nyberg M** (2016) Cardiovascular Adaptations to Exercise Training. *Compr. Physiol.* 6:1–32
159. **Hendy AM, Major B, Nosaka K, et al.** (2018) Effects of eccentric versus concentric contractions of the biceps brachii on intracortical inhibition and facilitation. *Scand. J. Med. Sci. Sport.*
160. **Henneman E, Olson CB** (1965) Relations

- H -

- Between Structure and Function in the Design of Skeletal Muscles. *J. Appl. Physiol.*
161. **Herzog W** (2014) The role of titin in eccentric muscle contraction. *J. Exp. Biol.* 217:2825–2833
162. **Herzog W** (2018) The multiple roles of titin in muscle contraction and force production. *Biophys. Rev.* 1187–1199
163. **Heymsfield SB, Gonzalez MC, Lu J, et al.** (2015) Skeletal muscle mass and quality : evolution of modern measurement concepts in the context of sarcopenia. *Proc. Nutr. Soc.*
164. **Hickson RC** (1980) Interference of Strength Development by Simultaneously Training for Strength and Endurance. *Eur. J. Appl. Physiol.* 263:255–263
165. **Hill A V** (1938) The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 136–195
166. **Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, et al.** (2016) Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 11:1–18
167. **Hilmi M, Jouinot A, Burns R, et al.** (2018) Body composition and sarcopenia: the next-generation of personalized oncology and pharmacology? *Pharmacol. Ther.*
168. **Hinnebusch AG** (2006) eIF3: a versatile scaffold for translation initiation complexes. *Trends Biochem. Sci.* 31:553–562
169. **Hodson N, Philp A** (2019) The Importance of mTOR Trafficking for Human Skeletal Muscle Translational Control. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 1
170. **Hody S, Croisier J, Bury T, et al.** (2019) Eccentric Muscle Contractions : Risks and Benefits. *Front. Physiol.* 10:1–18
171. **Holloszy JO, Coyle EF** (1984) Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J. Appl. Physiol.* 831–838
172. **Hoppeler H** (2016) Moderate Load Eccentric Exercise ; A Distinct Novel Training Modality. *Front. Physiol.*
173. **Horigan AE** (2012) Fatigue in Hemodialysis Patients : A Review of Current Knowledge. *J. Pain Symptom Manage.* 44:715–724
174. **Hsu PP, Kang SA, Rameseder J, et al.** (2011) The mTOR-regulated phosphoproteome reveals a mechanism of mTORC1-mediated inhibition of growth factor signaling. *Science (80-.).* 332:1317–1322
175. **Hu L, Klein JD, Hassounah F, et al.** (2015) Low-Frequency Electrical Stimulation Attenuates Muscle Atrophy in CKD — A Potential Treatment Strategy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 626–635
176. **Huang SHS, Crowley LE, Jefferies HJ, et al.** (2014) The Impact of Hemodialysis on Segmental and Global Longitudinal Myocardial Strain. *Can. J. Cardiol.* 30:1422–1428
177. **Hughes DC, Ellefsen S, Baar K** (2017) Adaptations to Endurance and Strength Training. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*
178. **Hughes VA, Frontera WR, Wood M, et al.** (2001) Longitudinal Muscle Strength Changes in Older Adults : Influence of Muscle Mass, Physical Activity, and Health. *J. Gerontol.* 56:209–217
179. **Huxley H, Hanson J** (1954) Changes in the Cross-Striations of Muscle during Contraction and Stretch and their Structural Interpretation. *Nature*
180. **Hyldahl RD, Chen TC, Nosaka K** (2017) Mechanisms and Mediators of the Skeletal Muscle Repeated Bout Effect. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 45:24–33

- I -

181. **Imamura H, Mizuuchi K, Oshikata R** (2012) Physical Activity and Blood Lipids and Lipoproteins in Dialysis Patients. *Int. J. Nephrol.* 2012:1–6
182. **Isoyama N, Qureshi AR, Avesani CM, et al.** (2014) Comparative associations of muscle mass and muscle strength with mortality in dialysis patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 9:1720–1728

- J -

183. **Jacobs JL, Marcus RL, Morrell G, et al.** (2014) Resistance exercise with older fallers: Its impact on intermuscular adipose tissue. *Biomed Res. Int.* 2014
184. **Jakobsen LH, Rask IK, Kondrup J** (2010) Validation of handgrip strength and endurance as a measure of physical function and quality of life in healthy subjects and patients. *Nutrition* 26:542–550
185. **Jans MP, Proper KI, Hildebrandt VH** (2007) Sedentary Behavior in Dutch Workers. *Am. J. Prev. Med.* 33:450–454
186. **Janssen I, Baumgartner RN, Ross R, et al.** (2004) Skeletal Muscle Cutpoints Associated with Elevated Physical Disability Risk in Older Men and Women. *Am. J. Epidemiol.* 159:413–421
187. **Janssen I, Heymsfield SB, Ross R** (2002) Low Relative Skeletal Muscle Mass (Sarcopenia) in Older Persons Is Associated with Functional Impairment and Physical Disability. *J. Am. Geriatr. Soc.* 889–896
188. **Jansson E, Sjodin B, Tesch P** (1978) Changes in muscle fibre type distribution in man after physical training. *Acta Physiol. Scand.*

104:235–237

189. **Johansen KL** (2008) Exercise and dialysis. *Hemodial. Int.* 12:290–300
190. **Johansen KL, Chertow GM, Ng A V, et al.** (2000) Physical Activity levels in patients on hemodialysis and healthy sedentary controls. *Kidney Int.*
191. **Johansen KL, Sakkas GK, Doyle J, et al.** (2003) Exercise Counseling Practices Among Nephrologists Caring for Patients on Dialysis. *Am. J. Kidney Dis.* 41:171–178
192. **Johansen KL, Shubert T, Doyle J, et al.** (2003) Muscle atrophy in patients receiving hemodialysis: Effects on muscle strength, muscle quality, and physical function. *Kidney Int.* 63:291–297
193. **Joyner MJ, Coyle EF** (2008) Endurance exercise performance : the physiology of champions. *J. Physiol.* 1:35–44
194. **Judge AR, Koncarevic A, Hunter RB, et al.** (2006) Role for I κ B α , but not c-Rel , in skeletal muscle atrophy. *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* 02215:372–382
195. **Jung T, Park S** (2011) Intradialytic Exercise Programs for Hemodialysis Patients. *Chonnam Med. J.* 47:61–65

- K -

196. **Kaballo MA, Canney M, Kelly PO, et al.** (2018) A comparative analysis of survival of patients on dialysis and after kidney transplantation. *Clin. Kidney J.* 11:389–393
197. **Kaji H, Suzuki M, Yano S, et al.** (2002) Risk Factors for Hip Fracture in Hemodialysis Patients. *Am. J. Nephrol.* 22:325–331
198. **Kawanaka K, Tabata I, Katsuta S, et al.** (1997) Changes in insulin-stimulated glucose transport and GLUT-4 protein in rat skeletal

- muscle after training. *J. Appl. Physiol.* 20:40–44
199. **Ke R, Xu Q, Li C, et al.** (2018) Mechanisms of AMPK in the maintenance of ATP balance during energy metabolism. *Cell Biol. Int.* 42:384–392
200. **Kim J-K, Choi SR, Choi MJ, et al.** (2013) Prevalence of and factors associated with sarcopenia in elderly patients with end-stage renal disease. *Clin. Nutr.* 2–6
201. **Klionsky DJ** (2005) The molecular machinery of autophagy: unanswered questions. *J. Cell Sci.*
202. **Knight EL, Ofsthun N, Teng M, et al.** (2003) The association between mental health, physical function, and hemodialysis mortality. *Kidney Int. Reports* 63:1843–1851
203. **Kolko Labadens A, Lasseur C, Labat T, et al.** (2014) Physical activity in dialysis population : How and why to assess and establish a program ? *Néphrologie & Thérapeutique*
204. **Kolupaeva VG, Unbehaun A, Lomakin IB, et al.** (2005) Binding of eukaryotic initiation factor 3 to ribosomal 40S subunits and its role in ribosomal dissociation and anti-association. *RNA* 11:470–486
205. **Konopka AR, Harber MP** (2014) Skeletal Muscle Hypertrophy after Aerobic Exercise Training. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 42:53–61
206. **Koopman R, Manders RJF, Zorenc AHG, et al.** (2005) A single session of resistance exercise enhances insulin sensitivity for at least 24 h in healthy men. *Eur. J. Appl. Physiol.* 180–187
207. **Koopman R, Ryall JG, Church JE, et al.** (2009) The role of beta-adrenoceptor signaling in skeletal muscle: therapeutic implications for muscle wasting disorders. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*
208. **Koppe L, Pillon NJ, Vella RE, et al.** (2013) p-Cresyl Sulfate Promotes Insulin Resistance Associated with CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 88–99
209. **Kopple J, Storer T, Casburi R** (2005) Impaired Exercise Capacity and Exercise Training in Maintenance Hemodialysis Patients. *J. Ren. Nutr.* 15:44–48
210. **Kordinas V, Nicolaou C, Tsirpanlis G, et al.** (2012) Transcription of the Tumor Suppressor Genes p53 and RB in Lymphocytes from Patients with Chronic Kidney Disease : Evidence of Molecular Senescence ? *Int. J. Nephrol.* 2012
211. **Kortebein P, Symons TB, Ferrando A, et al.** (2008) Functional Impact of 10 Days of Bed Rest in Healthy Older Adults. *J. Gerontol.* 63:1076–1081
212. **Kosmadakis GC, Bevington A, Smith AC, et al.** (2010) Physical Exercise in Patients with Severe Kidney Disease. *Clin. Pract.* 7–16
213. **Kraemer WJ, Fleck SJ, Evans WJ** (1996) Strength and Power Training: Physiological Mechanisms of Adaptation. *Exerc. Sport Sci. Rev.*
214. **Kubo K, Ikebukuro T, Maki A, et al.** (2012) Time course of changes in the human Achilles tendon properties and metabolism during training and detraining in vivo. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2679–2691
215. **Kwatra M, Ahmed S, Ranjan Panda S, et al.** (2021) Background and Management of Muscular Atrophy Molecular Mechanisms, Therapeutic Targets and Pharmacological Interventions: An Update
- L -
216. **Lacour J-R** (1992) *Biologie de L'Exercice Musculaire*

217. **Lacson E, Xu J, Lin S, et al.** (2010) A Comparison of SF-36 and SF-12 Composite Scores and Subsequent Hospitalization and Mortality Risks in Long-Term Dialysis Patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 5:252–260
218. **Lagirand-Cantaloube J, Offner N, Csibi A, et al.** (2008) The initiation factor eIF3-f is a major target for Atrogin1/MAFbx function in skeletal muscle atrophy. *EMBO J.* 27:1266–1276
219. **Lai K-M V, Gonzalez M, Poueymirou WT, et al.** (2004) Conditional Activation of Akt in Adult Skeletal Muscle Induces Rapid Hypertrophy. *Mol. Cell. Biol.* 24:9295–9304
220. **Lamming DW** (2016) Inhibition of the Mechanistic Target of Rapamycin (mTOR)–Rapamycin and Beyond. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*
221. **Lang SM, Kazi AA, Hong-brown L, et al.** (2012) Delayed Recovery of Skeletal Muscle Mass following Hindlimb Immobilization in mTOR Heterozygous Mice. *PLoS One*
222. **Langberg H, Ellingsgaard H, Madsen T, et al.** (2007) Eccentric rehabilitation exercise increases peritendinous type I collagen synthesis in humans with Achilles tendinosis. *Scand. J. Med. Sci. Sport.* 17:61–66
223. **Laroche D, Jousain C, Espagnac C, et al.** (2013) Is It Possible to Individualize Intensity of Eccentric Cycling Exercise From Perceived Exertion on Concentric Test? *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 94:1621–1627
224. **Lastayo PC, Ewy GA, Pierotti DD, et al.** (2003) The Positive Effects of Negative Work: Increased Muscle Strength and Decreased Fall Risk in a Frail Elderly Population. *J. Gerontol.* 58A:419–424
225. **Lastayo PC, Larsen S, Smith S, et al.** (2010) The Feasibility and Efficacy of Eccentric Exercise with Older Cancer Survivors: a Preliminary Study. *J. Geriatr. Phys. Ther.* 33:135–140
226. **Lastayo PC, Lewek MD, Snyder-mackler L, et al.** (2003) Eccentric Muscle Contractions: Their Contribution to Injury, Prevention, Rehabilitation, and Sport. *J. Orthop. Sport. Phys. Ther.* 557–571
227. **Lastayo PC, Marcus R, Dibble L, et al.** (2013) Eccentric exercise in rehabilitation: safety, feasibility, and application. *J. Appl. Physiol.* 116:1426–1434
228. **Lastayo PC, Marcus R, Dibble L, et al.** (2017) Eccentric versus traditional resistance exercise for older adult fallers in the community: a randomized trial within a multi-component fall reduction program. *BMC Geriatr.* 17:1–11
229. **Lastayo PC, Pierotti DJ, Pifer J, et al.** (2000) Eccentric ergometry: increases in locomotor muscle size and strength at low training intensities. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1282–1288
230. **Lastayo PC, Reich TE, Urquhart M, et al.** (1999) Chronic eccentric exercise: improvements in muscle strength can occur with little demand for oxygen. *Am. J. Physiol.* 611–615
231. **Lauretani F, Russo CR, Bandinelli S, et al.** (2003) Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. *J. Appl. Physiol.* 1851–1860
232. **Lavender AP, Nosaka K** (2008) A light load eccentric exercise confers protection against a subsequent bout of more demanding eccentric exercise. *J. Sci. Med. Sport* 11:291–298
233. **Lee J-Y, Kim H-J, Rho SB, et al.** (2016) eIF3f reduces tumor growth by directly interrupting

- clusterin with anti-apoptotic property in cancer cells. *Oncotarget*
234. **Leong CH, Mcdermott WJ, Elmer SJ, et al.** (2014) Chronic Eccentric Cycling Improves Quadriceps Muscle Structure and Maximum Cycling Power. *Int. J. Sport. Med.* 35:559–565
235. **Leong DP, Teo KK, Rangarajan S, et al.** (2015) Prognostic value of grip strength : findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *Lancet* 6736:1–8
236. **Lewis MC** (2012) The feasibility of eccentric cycling as a training modality for increasing quadriceps strength at low cardiovascular cost.
237. **Lewis MI, Fournier M, Wang H, et al.** (2012) Metabolic and morphometric profile of muscle fibers in chronic hemodialysis patients. *J. Appl. Physiol.* 112:72–78
238. **Lexell J, Downham D** (1992) What is the effect of aging on type II muscle fibers ? What is the effect of ageing on type 2 muscle fibres ? *J. Neurol. Sci.* 10–12
239. **Lexell J, Taylor CC, Sjöström M** (1988) What is the cause of the ageing atrophy ? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J. Neurol. Sci.* 275–294
240. **Li M, Tomlinson G, Naglie G, et al.** (2007) Geriatric comorbidities, such as falls, confer an independent mortality risk to elderly dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 23:1396–1400
241. **Lieber RL, Ward SR** (2011) Skeletal muscle design to meet functional demands. *Philos. Trans. R. Soc. B* 1466–1476
242. **Lim P-S, Ma Y-S, Cheng Y-M, et al.** (2002) Mitochondrial DNA Mutations and Oxidative Damage in Skeletal Muscle of Patients with Chronic Uremia. *J. Biomed. Sci.* 112
243. **Ling XC, Kuo K-L** (2018) Oxidative stress in chronic kidney disease. *Ren. Replace. Ther.* 2:1–9
244. **Livneh I, Kravtsova-Ivantsiv Y, Braten O, et al.** (2017) Monoubiquitination joins polyubiquitination as an esteemed proteasomal targeting signal. *BioEssays* 1–7
245. **Loewith R, Jacinto E, Wullschleger S, et al.** (2002) Two TOR Complexes, Only One of which Is Rapamycin Sensitive, Have Distinct Roles in Cell Growth Control. *Mol. Cell* 10:457–468
246. **Lüthi JM, Howald H, Claassen H, et al.** (1986) Structural Changes in Skeletal Muscle Tissue with Heavy-Resistance Exercise. *Int. J. Sport. Med.* 7:123–127
247. **Lv J, Zhang L-X** (2019) Prevalence and Disease Burden of Chronic Kidney Disease. *Adv Exp Med Biol.*
- M -
248. **Macdonald JH, Marcora SM, Jibani M, et al.** (2017) Bioelectrical impedance can be used to predict muscle mass and hence improve estimation of glomerular filtration rate in non-diabetic patients with chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 3481–3487
249. **MacDougall JD, Elder GCB, Sale DG, et al.** (1980) Effects of Strength Training and Immobilization on Human Muscle Fibres. *Eur. J. Appl. Physiol.* 34:25–34
250. **Macinnis MJ, Zacharewicz E, Martin BJ, et al.** (2017) Superior mitochondrial adaptations in human skeletal muscle after interval compared to continuous single-leg cycling matched for total work. *J. Physiol.* 9:2955–2968

251. **Magnard J, Deschamps T, Cornu C, et al.** (2013) Effects of a six-month intradialytic physical ACTivity program and adequate NUTritional support on protein-energy wasting, physical functioning and quality of life in chronic hemodialysis patients: ACTINUT study protocol for a randomised controlled trial. *BMC Nephrol.* 14:1–8
252. **Magnon V, Dutheil F, Auxiette C** (2018) Sedentariness : A Need for a Definition. *Front. Public Heal.* 6:55–58
253. **Makhlouf I, Castagna C, Manzi V, et al.** (2016) Effect of Sequencing Strength and Endurance Training in Young Male Soccer Players. *J. Strength Cond. Res.* 30
254. **Malmstrom TK, Miller DK, Simonsick EM, et al.** (2016) SARC-F : a symptom score to predict persons with sarcopenia at risk for poor functional outcomes. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* 28–36
255. **Manfredini F, Mallamaci F, D'Arrigo G, et al.** (2017) Exercise in Patients on Dialysis: A Multicenter, Randomized Clinical Trial. *J. Am. Soc. Nephrol.* 28:1259–1268
256. **Mapes DL, Lopes AA, Satayathum S, et al.** (2003) Health-related quality of life as a predictor of mortality and hospitalization: The dialysis outcomes and practice patterns study (DOPPS). *Kidney Int.* 64:339–349
257. **Marchione R, Laurin D, Liguori L, et al.** (2015) MD11-mediated delivery of recombinant eIF3f induces melanoma and colorectal carcinoma cell death. *Mol. Ther. - Methods Clin. Dev.* 2:14056
258. **Marchione R, Leibovitch S a., Lenormand JL** (2013) The translational factor eIF3f: The ambivalent eIF3 subunit. *Cell. Mol. Life Sci.* 70:3603–3616
259. **Marcucci L, Reggiani C** (2020) Increase of resting muscle stiffness, a less considered component of age-related skeletal muscle impairment. *Eur. J. Transl. Myol.* 30:223–233
260. **Marcus RL, Lastayo PC, Ikizler TA, et al.** (2016) Low physical function in maintenance hemodialysis patients is independent of muscle mass and comorbidity. *J. Ren. Nutr.* 25:371–375
261. **Marcus RL, Yoshida Y, Meier W, et al.** (2011) An Eccentrically Biased Rehabilitation Program Early after TKA Surgery. *Arthritis*
262. **Marini ACB, Perez DRS, Fleuri JA, et al.** (2020) SARC-F Is Better Correlated With Muscle Function Indicators Than Muscle Mass In Older Hemodialysis Patients. *J. Nutr. Heal. Aging*
263. **Martin JC, Elmer SJ** (2012) Construction of an Isokinetic Eccentric Cycle Ergometer for Research and Training. *J. Appl. Biomech.*
264. **Masschelein E, Hulst GD, Zvick J, et al.** (2020) Exercise promotes satellite cell contribution to myofibers in a load-dependent manner. *Skelet. Muscle* 1–15
265. **Masutani M, Sonenberg N, Yokoyama S, et al.** (2007) Reconstitution reveals the functional core of mammalian eIF3. *EMBO J.* 26:3373–83
266. **Matoba S, Kang J-G, Patino WD, et al.** (2006) p53 Regulates Mitochondrial Respiration. *Science (80-.).*
267. **Matsuzawa R, Hoshi K, Yoneki K, et al.** (2017) Exercise Training in Elderly People. *Kidney Int. Reports*
268. **May RC, Kelly RA, Mitch WE** (1986) Metabolic Acidosis Stimulates Protein Degradation in Rat Muscle by a Glucocorticoid-dependent Mechanism. *J. Clin. Invest.* 77:614–621
269. **May RC, Kelly RA, Mitch WE** (1987) Mechanisms for Defects in Muscle Protein

- Metabolism in Rats with Chronic Uremia Influence of Metabolic Acidosis. *J. Clin. Invest.* 79:1099–1103
270. **McGuire S, Horton EJ, Renshaw D, et al.** (2018) Hemodynamic Instability during Dialysis: The Potential Role of Intradialytic Exercise. *Biomed Res. Int.* 2018
271. **McKendry J, Joanisse S, Baig S, et al.** (2019) Superior Aerobic Capacity and Indices of Skeletal Muscle Morphology in Chronically Trained Master Endurance Athletes Compared With Untrained Older Adults. *Journals Gerontol.* 1–10
272. **Megari K** (2013) Quality of life in chronic disease patients. *Heal. Psychol. Res.* 1:141–148
273. **Mendoza M, Han M, Meyring-Wösten A, et al.** (2015) It's a non-dialysis day... do you know how your patient is doing? a case for research into interdialytic activity. *Blood Purif.* 39:74–83
274. **Mikines KJ, Galbo H** (1988) Effects of physical exercise on sensitivity and responsiveness to insulin in humans. *Am. J. Physiol.*
275. **Miro O, Marrades RM, Roca J, et al.** (2002) Skeletal Muscle Mitochondrial Function Is Preserved in Young Patients With Chronic Renal Failure. *Am. J. Kidney Dis.* 39:1025–1031
276. **Mitch WE, Medina R, Griebler S, et al.** (1994) Metabolic Acidosis Stimulates Muscle Protein Degradation by Activating the Adenosine Triphosphate-dependent Pathway Involving Ubiquitin and Proteasomes. *FASEB J.* 93:2127–2133
277. **Mitchell WK, Taivassalo T, Narici M V, et al.** (2017) Eccentric Exercise and the Critically Ill Patient. *Front. Physiol.* 8:8–11
278. **Mitchell WK, Williams J, Atherton P, et al.** (2012) Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Front. Physiol.* 3:1–18
279. **Mittal A, Bhatnagar S, Kumar A, et al.** (2010) The TWEAK-Fn14 system is a critical regulator of denervation-induced skeletal muscle atrophy in mice. *J. Cell Biol.*
280. **Mizushima N, Komatsu M** (2011) Autophagy: Renovation of Cells and Tissues. *Cell* 147:728–741
281. **Monnin D, Gafner S, Allet L** (1994) Un test fonctionnel : la Short Physical Performance Battery (SPPB). *Kinesithérapie, la Rev.* 1–2
282. **Monod-Zorzi S, Seematter-Bagnoud L, Büla C, et al.** (2007) Maladies chroniques et dépendance fonctionnelle des personnes âgées. *Tech. Rep.*
283. **Morena M, Martin-Mateo M, Cristol JP, et al.** (2002) Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie* 23:201–208
284. **Moretti J, Chastagner P, Gastaldello S, et al.** (2010) The translation initiation factor 3f (eIF3f) exhibits a deubiquitinase activity regulating notch activation. *PLoS Biol.*
285. **Morita M, Gravel S-P, Chénard V, et al.** (2013) mTORC1 Controls Mitochondrial Activity and Biogenesis through 4E-BP-Dependent Translational Regulation. *Cell Metab.* 4:698–711
286. **Mourkioti F, Kratsios P, Luedde T, et al.** (2006) Targeted ablation of IKK2 improves skeletal muscle strength, maintains mass, and promotes regeneration. *J. Clin. Invest.* 116
287. **Murach KA, Vechetti Jr IJ, Van Pelt DW, et al.** (2020) Fusion-Independent Satellite Cell

Communication to Muscle Fibers During Load-Induced Hypertrophy. *Function* 1:1–15

288. **Murlasits Z, Kneffel Z, Thalib L** (2017) The physiological effects of concurrent strength and endurance training sequence: A systematic review and meta-analysis. *J. Sports Sci.* 00:1–8

- N -

289. **Nabben M, Hoeks J, Briede JJ, et al.** (2008) The effect of UCP3 overexpression on mitochondrial ROS production in skeletal muscle of young versus aged mice. *FEBS Lett.* 582:4147–4152
290. **Nandi D, Tahiliani P, Kumar A, et al.** (2006) The ubiquitin-proteasome system. *J. Biosci.* 31:137–155
291. **Narici M, Franchi M, Maganaris C** (2016) Muscle structural assembly and functional consequences. *J. Exp. Biol.*
292. **Nasrabadi R, IZANLOO Z, Sharifnezad A, et al.** (2018) Muscle fiber conduction velocity of the vastus medialis and lateralis muscle after eccentric exercise induced- muscle damage. *J Electromyogr Kinesiol*
293. **Nay K, Jollet M, Goustard B, et al.** (2019) Gut bacteria are critical for optimal muscle function: a potential link with glucose homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 158–171
294. **Nicholls DG** (2021) Mitochondrial proton leaks and uncoupling proteins. *BBA - Bioenerg.* 148428
295. **Nitta K, Hanafusa N, Tsuchiya K** (2017) Frailty and mortality among dialysis patients. *Ren. Replace. Ther.* 3:41
296. **Norman K, Stobäus N, Gonzalez CM, et al.** (2011) Hand grip strength : Outcome predictor

and marker of nutritional status. *Clin. Nutr.* 30:135–142

- O -

297. **O'Hare A, Tawney K, Bacchetti P, et al.** (2003) Decreased Survival Among Sedentary Patients Undergoing Dialysis : Results From the Dialysis Morbidity and Mortality Study Wave 2. *Am. J. Kidney Dis.* 41:447–454
298. **Ochala J, Frontera WR, Dorer DJ, et al.** (2007) Single Skeletal Muscle Fiber Elastic and Contractile Characteristics in Young and Older Men. *J. Gerontol.* 62:375–381
299. **Oeckinghaus A, Ghosh S** (2009) The NF-κB Family of Transcription Factors and Its Regulation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 1–15
300. **Ogasawara R, Fujita S, Hornberger TA, et al.** (2016) The role of mTOR signalling in the regulation of skeletal muscle mass in a rodent model of resistance exercise. *Sci. Rep.* 6:1–12
301. **Ogasawara R, Suginochara T** (2018) Rapamycin-insensitive mechanistic target of rapamycin regulates basal and resistance exercise-induced muscle protein synthesis. *FASEB J.* 32:5824–5834
302. **Oliveira MC, Bufarah MNB, Balbi AL** (2018) Handgrip strength in end stage of renal disease — a narrative review. *Nutrire*
303. **Onda A, Jiao Q, Nagano Y, et al.** (2011) Acupuncture ameliorated skeletal muscle atrophy induced by hindlimb suspension in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 410:434–439
304. **Orell H, Schwab U, Saarilahti K, et al.** (2019) Nutritional Counseling for Head and Neck Cancer Patients Undergoing (Chemo) Radiotherapy — A Prospective Randomized

- Trial. *Front. Nutr.*
305. **Ortega-Pérez De Villar L, Martínez-Olmos FJ, De Borja Pérez-Domínguez F, et al.** (2020) Comparison of intradialytic versus home-based exercise programs on physical functioning, physical activity level, adherence, and health-related quality of life: pilot study. *Sci. Rep.* 1–10
306. **Owen N, Healy GN, Matthews CE, et al.** (2010) Too Much Sitting: The Population-Health Science of Sedentary Behavior. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 38:105–113
307. **Owen N, Leslie E, Salmon J, et al.** (2000) Environmental Determinants of Physical Activity and Sedentary Behavior. *Exerc. Sport Sci. Rev.*
308. **Owen N, Sparling PB, Healy GN, et al.** (2010) Sedentary Behavior : Emerging Evidence for a New Health Risk. *Mayo Clin. Proc.* 85:1138–1141
- P -
309. **Paavolainen L, Nummela A, Rusko H, et al.** (1999) Neuromuscular Characteristics and Fatigue During 10 km Running. *Int. J. Sport. Med.* 516–521
310. **Pageaux B, Besson D, Casillas J-M, et al.** (2019) Progressively increasing the intensity of eccentric cycling over four training sessions: a feasibility study in coronary heart disease patients. *Ann. Phys. Rehabil. Med.*
311. **Painter P** (2008) Exercise in Chronic Disease : Physiological Research Needed. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 55455:83–90
312. **Painter P, Blagg CR, Moore GE** (2008) Exercise for the Dialysis Patient.
313. **Painter P, Carlson L, Carey S, et al.** (2000) Physical Functioning and Health-Related Quality-of-Life Changes With Exercise Training in Hemodialysis Patients. *Am. J. Kidney Dis.* 35:482–492
314. **Painter P, Marcus RL** (2013) Assessing Physical Function and Physical Activity in Patients with CKD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 861–872
315. **Palla AR, Ravichandran M, Wang YX, et al.** (2021) Inhibition of Prostaglandin Degrading Enzyme 15-PGDH Rejuvenates Aged Muscle Mass and Strength. *Science* (80-.).
316. **Papadakis MA, Grady D, Black D, et al.** (1996) Growth Hormone Replacement in Healthy Older Men Improves Body Composition but Not Functional Ability. *Ann. Intern. Med.*
317. **Pastoris O, Aquilani R, Foppa P, et al.** (1997) Altered Muscle Energy Metabolism in Post-absorptive Patients with Chronic Renal Failure. *Scand. J. Urol. Nephrol.*
318. **Pate RR, Neill JRO, Lobelo F** (2008) The Evolving Definition of “ Sedentary .” *Exerc. Sport Sci. Rev.* 29208:173–178
319. **Paulsen G, Lauritzen F, Bayer ML, et al.** (2009) Subcellular movement and expression of HSP27 , α B-crystallin , and HSP70 after two bouts of eccentric exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* 107:570–582
320. **Perrey S, Betik A, Candau R, et al.** (2001) Comparison of oxygen uptake kinetics during concentric and eccentric cycle exercise. *J. Appl. Physiol.* 91:2135–2142
321. **Peterson CR** (2009) Acute neural adaptations to resistance training performed with low and high rates of muscle activation.
322. **Philip B, Lu Z, Gao Y** (2004) Regulation of GDF-8 signaling by the p38 MAPK. *Cell. Signal.* 17:365–375
323. **Philippou A, Maridaki M, Bogdanis GC, et al.** (2009) Changes in the Mechanical Properties

- of Human Quadriceps Muscle after Changes in the Mechanical Properties of Human. In Vivo (Brooklyn). 23:859–866
324. **Piasecki M, Ireland A, Coulson J, et al.** (2016) Motor unit number estimates and neuromuscular transmission in the tibialis anterior of master athletes : evidence that athletic older people are not spared from age-related motor unit remodeling. *Physiol. Rep.* 4:1–11
325. **Piasecki M, Ireland A, Jones DA, et al.** (2015) Age-dependent motor unit remodelling in human limb muscles. *Biogerontology*
326. **Piasecki M, Ireland A, Piasecki J, et al.** (2018) Failure to expand the motor unit size to compensate for declining motor unit numbers distinguishes sarcopenic from non-sarcopenic older men. *J. Physiol.*
327. **Piccirillo R** (2019) Exercise-Induced Myokines With Therapeutic Potential for Muscle Wasting. *Front. Physiol.*
328. **Pohl EE, Rupprecht A, Macher G, et al.** (2019) Important Trends in UCP3 Investigation. *Front. Physiol.* 10:1–16
329. **Poortinga G, Wall M, Sanij E, et al.** (2011) c-Myc coordinately regulates ribosomal gene chromatin remodeling and Pol I availability during granulocyte differentiation. *Nucleic Acids Res.* 39:3267–3281
330. **Porter MM, Vandervoort AA, Lexell J** (1995) Aging of human muscle : structure, function and adaptability. *Scand. J. Med. Sci. Sport.* 129–142
331. **Price SR, Bailey JL** (2020) A New Dimension to the Mechanisms Causing Muscle Loss in CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2495–2496
332. **Proske U, Morgan DL** (2001) Muscle damage from eccentric exercise : mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J. Physiol.* 357:333–345
- Q -
333. **Quittan M** (2016) Aspects of physical medicine and rehabilitation in the treatment of deconditioned patients in the acute care setting : the role of skeletal muscle. *Wien Med Wochenschr* 28–38
- R -
334. **Rabe M, Schaefer F** (2016) Non-transgenic mouse models of kidney disease. *Nephron* 133:53–61
335. **Raj DSC, Dominic EA, Pai A, et al.** (2005) Skeletal muscle, cytokines, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Kidney Int.* 68:2338–2344
336. **Ramos-Jiménez A, Hernández-Torres RP, Torres-Durán P V, et al.** (2008) The Respiratory Exchange Ratio is Associated with Fitness Indicators Both in Trained and Untrained Men : A Possible Application for People with Reduced Exercise Tolerance. *Clin. Med. Circ. Respir. Pulm.* 1–9
337. **Ravikumar B, Futter M, Jahreiss L, et al.** (2009) Mammalian macroautophagy at a glance. *J. Cell Sci.*
338. **Reaich D, Channon SM, Scrimgeour CM, et al.** (1993) Correction of acidosis in humans with CRF decreases protein degradation and amino acid oxidation. *Am. J. Physiol.*
339. **Reeves ND, Maganaris CN, Longo S, et al.** (2009) Differential adaptations to eccentric versus conventional resistance training in older humans. *Exp. Physiol.* 94:825–833
340. **Reid KF, Fielding RA** (2012) Skeletal Muscle Power: A Critical Determinant of Physical Functioning In Older Adults. *Exerc Sport Sci*

- Rev. 40:4–12
341. **Reiken S, Wehrens XHT, Vest JA, et al.** (2003) Beta-Blockers Restore Calcium Release Channel Function and Improve Cardiac Muscle Performance in Human Heart Failure. *Circulation* 2459–2466
342. **Réseau Epidémiologique et Information en Néphrologie** (2016) Rapport annuel 2014.
343. **Réseau Epidémiologique et Information en Néphrologie** (2017) Synthèse du rapport annuel 2017 du réseau REIN : Les chiffres clés de la maladie rénale au stade de la dialyse et de la greffe en 2017.
344. **Rezende LR, Souza PB de, Pereira GRM, et al.** (2017) Metabolic acidosis in hemodialysis patients : a review. *Bras. J. Nephrol.* 305–311
345. **Richter EA, Hargreaves M** (2013) Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol. Rev.* 993–1017
346. **Risson V, Mazelin L, Roceri M, et al.** (2009) Muscle inactivation of mTOR causes metabolic and dystrophin defects leading to severe myopathy. *J. Cell Biol.*
347. **Rizzo MA, Frediani F** (2011) Neurological complications of hemodialysis : state of the art. *J. Nephrol.*
348. **Robineau J** (2013) Gestion des interférences liées au développement des qualités neuromusculaires et énergétiques.
349. **Robineau J, Babault N, Piscione J, et al.** (2016) Specific Training Effects Of Concurrent Aerobic and Strength Exercises Depend On Recovery Duration. *J. Strength Cond. Res.* 672–683
350. **Rocha Vieira DS, Baril J, Richard R, et al.** (2011) Eccentric Cycle Exercise in Severe COPD : Feasibility of Application. *J. Chronic Obstr. Pulm. Dis.* 270–274
351. **Rodriguez J, Pierre N, Naslain D, et al.** (2017) Urolithin B, a newly identified regulator of skeletal muscle mass. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* 583–597
352. **Rognant N, Pouliquen E, Fave S, et al.** (2014) Physical activity and chronic kidney disease: An update in 2013 ? *Néphrologie & Thérapeutique*
353. **Roig M, Brien KO, Kirk G, et al.** (2009) The effects of eccentric versus concentric resistance training on muscle strength and mass in healthy adults : a systematic review with meta-analysis. *Br J Sport. Med* 556–568
354. **Roig M, Shadgan B, Reid WD** (2008) Eccentric Exercise in Patients with Chronic Health Conditions : A Systematic Review. *Physiother. Canada*
355. **Rommel C, Bodine SC, Clarke BA, et al.** (2001) Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nat. Cell Biol.*
356. **Roth SM, Ferrell RF, Hurley BF** (2000) Strength training for the prevention and treatment of sarcopenia. *J. Nutr. Heal. Aging* 4:143–155
357. **Roux PP, Blenis J** (2004) ERK and p38 MAPK-Activated Protein Kinases : a Family of Protein Kinases with Diverse Biological Functions. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68:320–344
358. **Roux PP, Shahbazian D, Vu H, et al.** (2007) RAS/ERK Signaling Promotes Site-specific Ribosomal Protein S6 Phosphorylation via RSK and Stimulates Cap-dependent Translation. *J. Biol. Chem.* 282:14056–14064
- S -
359. **Sabatino A, Regolisti G, Karupaiah T, et al.** (2017) Protein-energy wasting and nutritional supplementation in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. *Clin. Nutr.*

360. **Safdar A, Hamadeh MJ, Kaczor JJ, et al.** (2010) Aberrant Mitochondrial Homeostasis in the Skeletal Muscle of Sedentary Older Adults. *PLoS One* 5:31–33
361. **Sakkas GK, Ball D, Mercer TH, et al.** (2003) Atrophy of non-locomotor muscle in patients with end-stage renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant.* 18:2074–2081
362. **Sakuma K** (2017) The Plasticity of Skeletal Muscle: From Molecular Mechanism to Clinical Applications.
363. **Sala E, Noyszewski EA, Campistol JM, et al.** (2001) Impaired muscle oxygen transfer in patients with chronic renal failure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1240–1248
364. **Sale DG, Jacobs I, MacDougall JD, et al.** (1990) Comparison of two regimens of concurrent strength and endurance training. *Med. Sci. Sports Exerc.*
365. **Salmon J, Owen N, Crawford D, et al.** (2003) Physical Activity and Sedentary Behavior: A Population-Based Study of Barriers, Enjoyment, and Preference. *Heal. Psychol. Res.* 22:178–188
366. **Salyers ZR, Coleman M, Balestrieri NP, et al.** (2021) Indoxyl sulfate impairs angiogenesis via chronic aryl hydrocarbon receptor activation. *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.*
367. **Sanchez AMJ, Candau R, Bernardi H** (2018) AMP-activated protein kinase stabilizes FOXO3 in primary myotubes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1–6
368. **Sanchez AMJ, Candau RB, Bernardi H** (2014) FoxO transcription factors: Their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cell. Mol. Life Sci.* 71:1657–1671
369. **Sanchez AMJ, Candau RB, Csibi A, et al.** (2012) The role of AMP-activated protein kinase in the coordination of skeletal muscle turnover and energy homeostasis. *AJP Cell Physiol.* 303:C475–C485
370. **Sanchez AMJ, Csibi A, Raibon A, et al.** (2012) AMPK promotes skeletal muscle autophagy through activation of forkhead FoxO3a and interaction with Ulk1. *J. Cell. Biochem.* 113:695–710
371. **Sanchez AMJ, Csibi A, Raibon A, et al.** (2013) eIF3f: A central regulator of the antagonism atrophy/hypertrophy in skeletal muscle. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45:2158–2162
372. **Sanchez AMJ, Csibi A, Raibon A, et al.** (2013) eIF3f: A central regulator of the antagonism atrophy/hypertrophy in skeletal muscle. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45:2158–2162
373. **Sandri M** (2008) Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda).* 23:160–70
374. **Sandri M** (2010) Autophagy in skeletal muscle. *FEBS Lett.* 584:1411–1416
375. **Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al.** (2004) Foxo Transcription Factors Induce the Atrophy-Related Ubiquitin Ligase Atrogin-1 and Cause Skeletal Muscle Atrophy. *Cell* 117:399–412
376. **Sawant A, Garland SJ, House AA, et al.** (2011) Morphological, Electrophysiological, and Metabolic Characteristics of Skeletal Muscle in People with End-Stage Renal Disease: A Critical Review. *Physiother. Canada* 355–376
377. **Scapini KB, Bohlke M, Moraes OA, et al.** (2019) Combined training is the most effective training modality to improve aerobic capacity and blood pressure control in people requiring haemodialysis for end-stage renal disease : systematic review and network meta-analysis.

- J. Physiother. 65:4–15
378. **Schaap LA, Koster A, Visser M** (2012) Adiposity, Muscle Mass, and Muscle Strength in Relation to Functional Decline in Older Persons. *Epidemiol. Rev.* 35:51–65
379. **Schaap LA, van Schoor NM, Lips P, et al.** (2017) Associations of sarcopenia definitions, and their components, with the incidence of recurrent falling and fractures; the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *Gerontol. Soc.*
380. **Schakman O, Gilson H, Thissen J-P** (2008) Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J. Endocrinol.*
381. **Scharhag-Rosenberger F, Meyer T, Walitzek S, et al.** (2009) Time Course of Changes in Endurance Capacity: A 1-yr Training Study. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1130–1137
382. **Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, et al.** (2013) Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.* 280:4294–4314
383. **Schiaffino S, Reggiani C** (2011) Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol. Rev.* 1447–1531
384. **Schiaffino S, Reggiani C, Akimoto T, et al.** (2020) Molecular Mechanisms of Skeletal Muscle Hypertrophy. *J. Neuromuscul. Dis.*
385. **Schiaffino S, Sandri M, Murgia M** (2007) Activity-Dependent Signaling Pathways Controlling Muscle Diversity and Plasticity. *Physiology*
386. **Schindler R, Senf R, Frei U** (2002) Influencing the inflammatory response of haemodialysis patients by cytokine elimination using large-pore membranes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 6:17–19
387. **Schumann M, Rønnestad BR** (2019) Concurrent Aerobic and Strength Training.
388. **Schumann M, Walker S, Izquierdo M, et al.** (2014) The order effect of combined endurance and strength loadings on force and hormone responses: effects of prolonged training. *Eur. J. Appl. Physiol.*
389. **Schumann M, Yli-Peltola K, Abbiss CR, et al.** (2015) Cardiorespiratory Adaptations during Concurrent Aerobic and Strength Training in Men and Women. *PLoS One* 1–15
390. **Scott W, Stevens J, Binder-macleod SA** (2001) Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications. *Phys. Ther.* 81:1810–1816
391. **El Shemy MBA, Elhite Elhossiny Elkazeh EA, Elkually R** (2016) Efficacy Of Exercise Program In Intra Hemodialysis On Patients' Quality Of Life. *J. Nurs. Heal. Sci.* 5:17–30
392. **Shepherd J** (2016) Evaluation of Sarcopenia by DXA. *Clin. Rev. Bone Miner. Metab.* 14:45–49
393. **Shin S, Ryong H, Kistler BM, et al.** (2013) Effect of muscle strength on gait in hemodialysis patients with and without diabetes. *Int. J. Rehabil. Res.*
394. **Short KR, Bigelow ML, Kahl J, et al.** (2005) Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *PNAS*
395. **Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, et al.** (2004) Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *Am. J. Endocrinol. Metab.* 55905:92–101
396. **Shorten MR** (1987) Muscle Elasticity and Human Performance. *J. Sci. Med. Sport* 25:1–18
397. **Sietsema KE, Amato A, Adler SG, et al.** (2004) Exercise capacity as a predictor of survival among ambulatory patients with end-stage renal disease. *Kidney Int. Reports* 65:719–724
398. **Škarabot J, Brownstein CG, Casolo A, et al.** (2020) The knowns and unknowns of neural

- adaptations to resistance training. *Eur. J. Appl. Physiol.*
399. **Skelton D** (2001) Effects of physical activity on postural stability. *Age Ageing* 30:33–39
400. **Slee A, Mckeaveney C, Adamson G, et al.** (2019) Estimating the Prevalence of Muscle Wasting, Weakness, and Sarcopenia in. *J. Ren. Nutr.* 1–9
401. **Société Francophone de Néphrologie Dialyse et Transplantation** (2016) Rapport sur la dialyse chronique en France en 2016.
402. **Solsona R, Pavlin L, Bernardi H, et al.** (2021) Molecular Regulation of Skeletal Muscle Growth and Organelle Biosynthesis: Practical Recommendations for Exercise Training. *Int. J. Mol. Sci.*
403. **Song Y, Li Y, Du J, et al.** (2005) Muscle-specific expression of IGF-1 blocks angiotensin II – induced skeletal muscle wasting. *J. Clin. Invest.* 115
404. **Song Z, Moore DR, Hodson N, et al.** (2017) Resistance exercise initiates mechanistic target of rapamycin (mTOR) translocation and protein complex co-localisation in human skeletal muscle. *Sci. Rep.* 1–14
405. **Souweine JS, Boudet A, Chenine L, et al.** (2017) Standardized Method to Measure Muscle Force at the Bedside in Hemodialysis Patients. *J. Ren. Nutr.* 27:194–200
406. **Souza VA de, Oliveira D de, Mansur HN, et al.** (2015) Sarcopenia in Chronic Kidney Disease. *J. Bras. Nefrol.* 37
407. **Spendiff S, Vuda M, Gouspillou G, et al.** (2016) Denervation drives mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of octogenarians. *J. Physiol.* 24:7361–7379
408. **Stack AG, Molony DA, Rives T, et al.** (2005) Association of physical activity with mortality in the US dialysis population. *Am. J. Kidney Dis.* 45:690–701
409. **Staron RS, Malicky ES, Leonardi MJ, et al.** (1990) Muscle hypertrophy and fast fiber type conversions in heavy resistance-trained women. *Eur. J. Appl. Physiol.* 71–79
410. **Steiner R, Meyer K, Lippuner K, et al.** (2004) Eccentric endurance training in subjects with coronary artery disease: a novel exercise paradigm in cardiac rehabilitation? *Eur. J. Appl. Physiol.* 91:572–578
411. **Stevens JA, Olson S** (2000) Reducing Falls and Resulting Hip Fractures among Older Women. *Morb Mortal Wkly Rep.*
412. **Stitt TN, Drujan D, Clarke BA, et al.** (2004) The IGF-1/PI3K/Akt Pathway Prevents Expression of Muscle Atrophy-Induced Ubiquitin Ligases by Inhibiting FOXO Transcription Factors. *Mol. Cell* 14:395–403
413. **Strasser EM, Draskovits T, Praschak M, et al.** (2013) Association between ultrasound measurements of muscle thickness, pennation angle, echogenicity and skeletal muscle strength in the elderly. *Age (Omaha).* 35:2377–2388
414. **Stuck AE, Walthert JM, Nikolaus T, et al.** (1999) Risk factors for functional status decline in community- living elderly people: a systematic literature review. *Soc. Sci. Med.* 48:445–469
415. **Summer R, Shaghghi H, Schriener D, et al.** (2019) Activation of the mTORC1 / PGC-1 axis promotes mitochondrial biogenesis and induces cellular senescence in the lung epithelium. *Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.* 1049–1060
416. **Sutcliffe BK, Bennett P, Fraser SF, et al.** (2017) The deterioration in physical function of

- hemodialysis patients. *Hemodial. Int.*
417. **Suzuki N, Motohashi N, Uezumi A, et al.** (2007) NO production results in suspension-induced muscle atrophy through dislocation of neuronal NOS. *J. Clin. Invest.*
418. **Sverdrup K, Bergh S, Selbæk G, et al.** (2020) Trajectories of physical performance in nursing home residents with dementia. *Aging Clin. Exp. Res.* 32:2603–2610
419. **Szwed A, Kim E, Jacinto E** (2021) Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol. Rev.*
- T -
420. **Tagougui S, Leclair E, Fontaine P, et al.** (2014) Muscle Oxygen Supply Impairment during Exercise in Poorly Controlled Type 1 Diabetes. *Med. Sci. Sports Exerc.* 231–239
421. **Teixeira CG, Duarte CMB, Prado CM, et al.** (2014) Impact of chronic kidney disease on quality of life, lung function, and functional capacity. *J. Pediatr. (Rio. J).* 178:1–7
422. **Tentori F, Elder SJ, Thumma J, et al.** (2010) Physical exercise among participants in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) : correlates and associated outcomes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 25:3050–3063
423. **Thomas SS, Dong Y, Zhang L, et al.** (2013) Signal regulatory protein- α interacts with the insulin receptor contributing to muscle wasting in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 84:308–316
424. **Thome T, Kumar RA, Burke SK, et al.** (2020) Impaired muscle mitochondrial energetics is associated with uremic metabolite accumulation in chronic kidney disease. *JCI Insight* 6:1–20
425. **Thompson S, Klarenbach S, Molzahn A, et al.** (2016) Randomised factorial mixed method pilot study of aerobic and resistance exercise in haemodialysis patients : DIALY-SIZE! *BMJ Open*
426. **Thorp AA, Owen N, Neuhaus M, et al.** (2011) Sedentary Behaviors and Subsequent Health Outcomes in Adults. *Am. J. Prev. Med.* 41:207–215
427. **Topinková E** (2008) Aging, Disability and Frailty. *Ann. Nutr. Metab.* 52:6–11
428. **Traoré M, Gentil C, Benedetto C, et al.** (2019) An embryonic CaVb1 isoform promotes muscle mass maintenance via GDF5 signaling in adult mouse. *Sci. Transl. Med.* 1–14
429. **Tremblay MS, Aubert S, Barnes JD, et al.** (2017) Sedentary Behavior Research Network (SBRN) – Terminology Consensus Project process and outcome. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 1–17
430. **Tremblay MS, Colley RC, Saunders TJ, et al.** (2010) Physiological and health implications of a sedentary lifestyle. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 740:725–740
- U -
431. **Ultimo S, Zauli G, Martelli AM, et al.** (2018) Influence of physical exercise on microRNAs in skeletal muscle regeneration, aging and diseases. *Oncotarget* 9:17220–17237
- V -
432. **Del Vecchio A, Casolo A, Negro F, et al.** (2019) The increase in muscle force after 4 weeks of strength training is mediated by adaptations in motor unit recruitment and rate coding. *J. Physiol.* 7:1873–1887
433. **Verdijk LB, Gleeson BG, Jonkers RAM, et al.** (2009) Skeletal Muscle Hypertrophy Following Resistance Training Is Accompanied by a Fiber

- Type–Specific Increase in Satellite Cell Content in Elderly Men. *J. Gerontol.* 64:332–339
434. **Vilacxa Alves J, Saavedra F, Simao R, et al.** (2012) Does Aerobic and Strength Exercise Sequence in the Same Session Affect the Oxygen Uptake During and Postexercise? *J. Strength Cond. Res.* 1872–1878
435. **Visser M, Kritchevsky SB, Goodpaster BH, et al.** (2002) Leg Muscle Mass and Composition in Relation to Lower Extremity Performance in Men and Women Aged 70 to 79: The Health, Aging and Body Composition Study. *J. Am. Geriatr. Soc.* 897–904
436. **Vogt M, Hoppeler HH** (2014) Eccentric exercise : mechanisms and effects when used as training regime or training adjunct. *J. Appl. Physiol.* 116:1446–1454
437. **Völler H, Gitt A, Jannowitz C, et al.** (2014) Treatment patterns, risk factor control and functional capacity in patients with cardiovascular and chronic kidney disease in the cardiac rehabilitation setting. *Eur. J. Prev. Cardiol.*
438. **Voorrips LE, Ravelli ACJ, Dongelmans PCA, et al.** (1991) A physical activity questionnaire for the elderly. *Med. Sci. Sports Exerc.* 23
- W -
439. **Wahren J, Felig P, Ahlborg G, et al.** (1971) Glucose Metabolism during Leg Exercise in Man. *J. Clin. Invest.* 50:2715–2725
440. **Wang H, Kubica N, Ellisen LW, et al.** (2006) Dexamethasone Represses Signaling through the Mammalian Target of Rapamycin in Muscle Cells by Enhancing Expression of REDD1. *J. Biol. Chem.* 281:39128–39134
441. **Wang XH, Du J, Klein JD, et al.** (2009) Exercise ameliorates chronic kidney disease – induced defects in muscle protein metabolism and progenitor cell function. *Kidney Int.* 76:751–759
442. **Wang XH, Mitch WE** (2014) Mechanisms of muscle wasting in chronic kidney disease. *Nat. Rev. Nephrol.* 10:504–516
443. **Wang XH, Zhang L, Mitch WE, et al.** (2010) Caspase-3 Cleaves Specific 19 S Proteasome Subunits in Skeletal Muscle Stimulating Proteasome Activity. *J. Biol. Chem.* 285:21249–21257
444. **Wen F, Zhou R, Shen A, et al.** (2012) The tumor suppressive role of eIF3f and its function in translation inhibition and rRNA degradation. *PLoS One.*
445. **Wernbom M, Augustsson J** (2007) The Influence of Frequency, Intensity, Volume and Mode of Strength Training on Whole Muscle Cross-Sectional Area in Humans. *Sport. Med.*
446. **Westhoff M, Stemmerik L, Boshuizen H** (2000) Effects of a low-intensity strength-training program on knee-extensor strength and functional ability of frail older people. *J. Aging Phys. Act.* 8:325–342
447. **Whitham M, Febbraio MA** (2016) The ever-expanding myokinome: Discovery challenges and therapeutic implications. *Nat. Rev. Drug Discov.* 15:719–729
448. **Wilkinson DJ, Piasecki M, Atherton PJ** (2018) The age-related loss of skeletal muscle mass and function: measurement and mechanisms of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. *Ageing Res. Rev.*
449. **Wilson JM, Loenneke JP, Jo E, et al.** (2012) The Effects of Endurance, Strength, and Power Training on Muscle Fiber Type Shifting. *J. Strength Cond. Res.* 1724–1729
450. **Wilson JM, Science A, Rhea MR, et al.** (2011)

- Concurrent Training: A Meta-Analysis Examining Interference of Aerobic and Resistance Exercises. *J. Strength Cond. Res.*
451. **Wisniowska-Szurlej A, Cwirlej-Sozanska A, Wołoszyn N, et al.** (2019) Association between Handgrip Strength, Mobility, Leg Strength, Flexibility, and Postural Balance in Older Adults under Long-Term Care Facilities. *Biomed Res. Int.* 2019
452. **Woo J, Leung J, Morley MB JE** (2014) Validating the SARC-F: A Suitable Community Screening Tool for Sarcopenia? *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 15:630–634
453. **World Health Organization** (2010) *Recommandations Mondiales sur l'Activité Physique Pour la Santé.*
454. **World Health Organization** (2018) *More active people for a healthier world: Global action plan on physical activity 2018-2030.*
455. **World Health Organization** (2018) *Noncommunicable diseases: Country Profiles 2018.*
456. **World Health Organization** (2020) *WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour.*
457. **Van De Worp WRPH, Theys J, van Helvoort A, et al.** (2018) Regulation of muscle atrophy by microRNAs: 'AtromiRs' as potential target in cachexia. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*
458. **Wulf G, Shea C, Lewthwaite R** (2010) *Motor Skill Learning and Performance: a Review of Influential Factors.* *Ment. Educ.* 44:75–84
- Y -
459. **Yan Z, Okutsu M, Akhtar YN, et al.** (2011) Regulation of exercise-induced fiber type transformation, mitochondrial biogenesis, and angiogenesis in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 264–274
460. **Yoshida T** (2020) Mechanisms of IGF-1-Mediated Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy. *Cells* 1–25
- Z -
461. **Zelle DM, Klaassen G, Van Adrichem E, et al.** (2017) Physical inactivity: A risk factor and target for intervention in renal care. *Nat. Rev. Nephrol.* 13:152–168
462. **Zhang L, Chen Q, Chen Z, et al.** (2020) Mechanisms Regulating Muscle Protein Synthesis in Chronic Kidney Disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1–15
463. **Zhang L, Rajan V, Lin E, et al.** (2011) Pharmacological inhibition of myostatin suppresses systemic inflammation and muscle atrophy in mice with chronic kidney disease. *FASEB J.* 1653–1663
464. **Zuo M-L, Yue W-S, Yip T, et al.** (2013) Prevalence of and Associations With Reduced Exercise Capacity in Peritoneal Dialysis Patients. *Am. J. Kidney Dis.*

RESUME

La plasticité du muscle strié squelettique lui permet de s'adapter de façon optimale aux stimuli de son environnement comme l'exercice, mais le rend aussi sensible à des conditions délétères comme le manque d'activité physique et les maladies chroniques qui vont souvent de pair. Dans le cadre de l'insuffisance rénale chronique terminale, la fonction musculaire, fortement affectée, peut être améliorée par l'exercice physique pratiqué pendant l'hémodialyse. Ce travail de thèse a permis de mettre en évidence que quelle que soit la séquence des exercices, la réhabilitation combinée permet d'améliorer la force des membres, la vitesse de marche et l'équilibre des patients. Ce travail de thèse montre aussi l'intérêt de l'implémentation de l'exercice excentrique au lit du patient qui pourrait permettre dans le futur une réhabilitation encore plus efficace et également accessible aux plus déconditionnés. Parallèlement, le développement de stratégies thérapeutiques efficaces requiert l'identification des mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation de la balance protéique musculaire. De nombreuses voies de signalisation cellulaires permettent de réguler la synthèse et la dégradation des protéines et le facteur eIF3f apparaît comme un régulateur majeur de la synthèse protéique. Dans ce travail de thèse, l'étude des fonctions physiologiques de eIF3f chez l'animal a permis de montrer *in vivo* l'impact du niveau d'expression de eIF3f sur la régulation de la masse musculaire et de la synthèse protéique à l'état basal et en condition d'hypoactivité. Alors que sa sous-expression diminue la masse du tissu musculaire et affecte le métabolisme, sa surexpression stimule l'anabolisme et permet de retarder l'atrophie musculaire induite par l'immobilisation. La compréhension des rôles physiologiques de eIF3f dans le maintien de la fonction musculaire pourrait alors permettre le développement de nouvelles thérapeutiques du déconditionnement musculaire.

ABSTRACT

The plasticity of the skeletal muscle allows it to adapt optimally to stimuli of the environment such as exercise, but also makes the skeletal muscle prone to deleterious conditions such as lack of activity and chronic diseases that are often associated. In end-stage renal disease, the muscle function, highly affected, can be improved by physical exercise performed during hemodialysis. This thesis highlights that whatever the sequence of exercises, combined rehabilitation improves limbs strength, walking speed and patients' balance. The work in this thesis also shows the interest of the implementation of eccentric exercise at the patient bedside, which could allow an even more effective rehabilitation in the future that would also be accessible to the most deconditioned. At the same time, the development of effective therapeutic strategies requires the identification of the molecular mechanisms involved in the regulation of muscle protein balance. Numerous cellular signaling pathways regulate protein synthesis and degradation and eIF3f factor appears to be a major regulator of protein synthesis. In this thesis work, the study of the physiological functions of eIF3f in animals shows *in vivo* the impact of the level of expression of eIF3f on the regulation of muscle mass and protein synthesis at basal state and during hypoactivity. While its partial depletion decreases muscle mass and affects metabolism, its overexpression stimulates anabolism and helps to delay immobilization-induced muscle atrophy. Understanding the physiological roles of eIF3f in muscle function may possibly lead to the development of new therapies against muscle deconditioning.