



HAL
open science

Impact de l'exercice physique sur le muscle squelettique drépanocytaire : caractérisation de la fatigabilité musculaire et des effets de l'exercice aérobique sur la balance pro-antioxydant

Étienne Gouraud

► **To cite this version:**

Étienne Gouraud. Impact de l'exercice physique sur le muscle squelettique drépanocytaire : caractérisation de la fatigabilité musculaire et des effets de l'exercice aérobique sur la balance pro-antioxydant. Physiologie [q-bio.TO]. Université de Lyon, 2020. Français. NNT : 2020LYSE1316 . tel-03617468

HAL Id: tel-03617468

<https://theses.hal.science/tel-03617468>

Submitted on 23 Mar 2022

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.



N°d'ordre NNT : 2020LYSE1316

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de

l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé (ED 205)

Spécialité de doctorat : Sciences de la vie, Biologie, Santé

Discipline : Physiologie

Soutenue publiquement le 09/12/2020, par :

Etienne GOURAUD

**Impact de l'exercice physique sur le muscle squelettique
drépanocytaire : caractérisation de la fatigabilité musculaire et des
effets de l'exercice aérobie sur la balance pro/antioxydant.**

Devant le jury composé de :

Rapporteurs

JONVILLE Sophie, Maître de conférences à l'université des Antilles

VERGES Samuel, Chargé de recherche à l'université Grenoble-Alpes

RAMONATXO Christelle, Maître de conférences à l'université de Montpellier

Examineurs

BARTOLUCCI Pablo, Professeur à l'université Paris-Est Créteil

CANET-SOULAS Emmanuelle, Professeur à l'université Claude Bernard Lyon 1

CONNES Philippe, Professeur à l'université Claude Bernard Lyon 1

FEASSON Léonard, Professeur à l'université Jean Monnet Saint-Etienne

Directeur de thèse

HAUTIER Christophe, Maître de conférences à l'université Claude Bernard Lyon 1

Invité

GONDIN Julien, Chargé de recherche à l'université Claude Bernard Lyon 1

Université Claude Bernard – LYON 1

Administrateur provisoire de l'Université	Président du Conseil	M. Frédéric FLEURY
Académique	Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire		M. Didier REVEL
Vice-Président de la Commission de Recherche	Directeur	M. Philippe CHEVALLIER
Général des Services		M. Jean-François MORNEX
		M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité EA 7424 sous la direction de Christophe Hautier et Camille Faës au sein de l'équipe « Biologie Vasculaire et du Globule Rouge ».

La thèse est avant tout une expérience humaine, souvent solitaire, mais aussi collective ainsi j'aimerais tout d'abord remercier mes directeurs de thèse, **Christophe Hautier** et **Camille Faës**. **Christophe**, merci de m'avoir fait confiance (et supporté) pendant ces 5 dernières années, merci pour ton soutien et tes nombreux conseils scientifique comme pédagogique qui m'ont permis de m'épanouir comme scientifique et comme enseignant. **Camille**, merci pour ton encadrement et la disponibilité dont tu as su faire preuve ces trois dernières années notamment sur le travail de mise en forme de la transmission scientifique (et il y en avait !). Je regrette profondément que tu ne sois plus parmi nous pour voir les résultats de ces trois années de travail.

J'aimerais également remercier l'ensemble des membres du jury. Les **Dr Sophie Jonville**, **Dr Christelle Ramonatxo** et **Dr Samuel Verges** d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail de thèse ainsi que le reste du jury : **Pr Pablo Bartolucci**, **Pr Emmanuelle Canet-Soulas**, **Pr Philippe Connes** et **Pr Léonard Feasson** d'avoir accepté de lire et de juger ce travail.

Je tiens également à remercier **Philippe Connes** et **Vincent Pialoux**. **Phil**, merci pour la confiance et toute l'aide que tu m'as apporté pour cette thèse et pour le temps que tu m'as accordé tout au long de ces trois années. **Vincent**, merci pour les nombreux conseils et encouragements prodigués tout long de cette thèse. Je remercie également l'ensemble des collègues de l'équipe « Biologie Vasculaire et du Globule Rouge » pour l'aide et les nombreux conseils qu'ils m'ont apporté tout au long de cette thèse mais aussi pour les nombreux bons moments hors du cadre professionnel.

Une grande partie de ce travail n'aurait pas été possible sans l'implication du personnel soignant du CLIMA de l'hôpital Edouard Herriot et de l'IHOP. Merci de m'avoir accueilli et d'avoir été si arrangeant pour que je puisse effectuer les différentes expérimentations présentées

dans ce travail de thèse. Merci à **Giovanna Cannas**, **Salima Merazga** et **Alexandra Gauthier-Vasserot** pour leur implication dans le recrutement des patients et l'organisation des visites de l'étude Drépamuscle, me facilitant grandement la tâche. Merci également à tous les patients et participants sains qui ont été les premiers acteurs des résultats présentés dans ce travail.

Un grand merci aux collègues doctorants et stagiaires de Master de Rockefeller et de la Doua pour l'aide, les discussions scientifiques (et moins scientifiques) et les nombreux moments entre étudiants permettant de souffler un peu. J'aimerais particulièrement remercier **Mathilde Mura** et **Anaëlle Boreau**, mes « comparses de galère » du bureau de Rockefeller. Merci pour les rires (parfois à mes dépends !), les nombreuses discussions et les nombreux coups de main qui ont été d'une grande aide durant ces trois années, ça a aura été un plaisir de partager le quotidien de cette thèse avec vous.

Je ne peux évidemment pas oublier ma famille et mes amis qui ont été un soutien de poids tout au long de ce travail de thèse. Merci à mes parents, **Jean-Paul** et **Gaëlle**, et ma sœur, **Cléa**, qui m'ont toujours soutenu dans mes démarches et projets professionnels, sans parfois y comprendre grand-chose, et d'avoir fait leur maximum pour que je puisse les réaliser. Je remercie également mes amis éparpillés un peu partout en France qui malgré la distance ont toujours été présents et d'un grand soutien au quotidien. Merci à **Amélie** pour ton écoute d'abord à Nantes puis après ta venue à Lyon, pour les rires, les longues discussions à refaire le monde et les nombreuses choses que tu as pu me faire découvrir artistiquement. Merci à **Sofia** et **Lisa** d'avoir été là dans les bons et les mauvais moments, pour les nombreux afterworks au Bieristan et au Gnome et Rhone et pour les soirées et dimanches « sons » au Sucre qui m'ont permis de m'évader ponctuellement. Merci à **Antoine** pour les longues soirées skype à discuter de sciences (pas toujours très sérieusement) mais surtout de tout et n'importe quoi. Merci à **Fran** pour ta bonne humeur, ton écoute et ta prévenance qui ont été d'une grande aide surtout dans cette fin de thèse.

TABLES DES MATIERES

<i>Liste des figures</i>	8
<i>Listes des tableaux</i>	11
<i>Listes des abréviations</i>	12
AVANT PROPOS	16
REVUE DE LITTERATURE	21
Chapitre 1 - LA PHYSIOPATHOLOGIE DREPANOCYTAIRE	22
I- Généralités sur la drépanocytose.....	22
1- <i>Historique</i>	22
2- <i>Définition</i>	23
3- <i>Epidémiologie</i>	26
II- Physiopathologie drépanocytaire.....	27
1- <i>Complications cliniques</i>	28
2- <i>Mécanismes de falciformation</i>	31
3- <i>Hémolyse</i>	33
4- <i>Conséquences cliniques de l'hémolyse</i>	35
5- <i>Crises vaso-occlusives</i>	37
III- Le stress oxydatif dans la physiopathologie drépanocytaire	40
1- <i>Généralités sur le stress oxydatif</i>	40
2- <i>Altération de la balance pro/antioxydante dans la drépanocytose</i>	44
IV- Thérapies actuelles	48
1- <i>Hydroxyurée</i>	48
2- <i>Transfusion sanguine</i>	51
3- <i>Transplantation osseuse et thérapie génique</i>	52
4- <i>Thérapies émergentes</i>	54
Chapitre 2 - EXERCICE ET DREPANOCYTOSE	57
I- Activité physique et drépanocytose.....	57
1- <i>Evaluation de la capacité à l'exercice dans la drépanocytose</i>	57
2- <i>L'exercice aigu chez le patient drépanocytaire</i>	62
a- <i>Généralités : les risques à l'exercice pour le patient drépanocytaire</i>	62
b- <i>Réponses cardio-ventilatoires</i>	64

c-	<i>Réponses hémorhéologiques, inflammatoires et du stress oxydatif</i>	68
3-	<i>L'exercice chronique</i>	71
a-	<i>Généralités</i>	71
b-	<i>L'exercice chronique aérobie dans la drépanocytose</i>	73
Chapitre 3 - LA FONCTION MUSCULAIRE SQUELETTIQUE		77
I-	<i>Le muscle squelettique : structure et fonction</i>	77
1-	<i>Le muscle squelettique</i>	77
a-	<i>Structure</i>	77
b-	<i>Les protéines contractiles</i>	80
2-	<i>Mécanismes cellulaires de la contraction</i>	83
a-	<i>Le couplage excitation-contraction</i>	83
b-	<i>Le récepteur à la ryanodine (RyR)</i>	86
c-	<i>Les pompes SERCA</i>	87
3-	<i>La fonction musculaire</i>	88
a-	<i>Concept d'unité motrice et recrutement musculaire</i>	88
b-	<i>Recrutement des unités motrices et production de force</i>	90
II-	<i>Le muscle squelettique dans la drépanocytose</i>	92
1-	<i>Modifications histologiques</i>	92
2-	<i>Modifications fonctionnelles</i>	93
a-	<i>Résultats pré-cliniques</i>	93
b-	<i>Résultats cliniques</i>	95
3-	<i>Effet de l'entraînement sur le muscle squelettique</i>	97
a-	<i>Généralités</i>	97
b-	<i>Résultats pré-cliniques</i>	99
c-	<i>Résultats cliniques</i>	101
Chapitre 4 – LA FATIGUE MUSCULAIRE : DEFINITION ET CARACTERISATION		104
I-	<i>La fatigue musculaire</i>	104
1-	<i>Définition</i>	104
II-	<i>Mécanismes d'apparition de la fatigue musculaire</i>	106
1-	<i>Causes centrales</i>	106
a-	<i>Recrutement des unités motrices</i>	108
b-	<i>Feedbacks inhibiteurs</i>	109

c- Facteurs psychologiques.....	110
2- Causes périphériques	112
a- Protéines contractiles	112
b- Homéostasie calcique	115
c- Excitabilité du sarcolemme	117
d- Réserves énergétiques.....	118
3- Influence de la modalité de l'exercice	120
III- L'électromyographie : outil de caractérisation de la fatigue musculaire	124
1- Généralités.....	124
a- Analyse temporelle	126
b- Utilisation de l'analyse temporelle dans l'étude de la fatigue musculaire.....	129
c- Analyse fréquentielle	130
d- Utilisation de l'analyse fréquentielle dans l'étude de la fatigue musculaire	132
HYPOTHESE / OBJECTIFS	134
CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE PERSONNELLE	137
CONCLUSIONS GENERALES	183
PERSPECTIVES	187
REFERENCES.....	192
ANNEXE 1	249
ANNEXE 2 : Listes des communications en congrès	257
Communications orales.....	257
Communications affichées	257

Liste des figures

Figure 1 : Frottis sanguin d'un patient drépanocytaire S/S (Extrait de Frenette & Atweh, 2007).

Figure 2 : Profils alléliques des patients S/S, S/C et S/ β^0 (Extrait de Kato et al., 2018)

Figure 3 : Nombres de naissances de nourrissons drépanocytaires pour 100 000 naissances par pays en 2015 (Extrait de Kato et al., 2018)

Figure 4 : Résumé des différentes complications cliniques présentes dans la drépanocytose (Adapté de Kato et al., 2018).

Figure 5 : Schéma d'une fibre formée par la polymérisation de l'HbS en condition désoxygénée (gauche) et structure atomique d'un polymère de désoxy-HbS obtenue par cristallographie (droite) (Extrait de Eaton & Bunn, 2017).

Figure 6 : Modifications de la membrane plasmique du globule rouge induite par la formation de polymères d'HbS (Extrait de Barabino et al., 2010).

Figure 7 : Conséquences intravasculaires de l'hémolyse chronique (Extrait de Morris, 2011).

Figure 8 : Etapes de l'interaction des différentes cellules sanguines menant à l'occurrence d'une crise vaso-occlusive (Extrait de Frenette, 2002)

Figure 9 : Récapitulatif des différents processus impliqués dans la production et la gestion des espèces oxygénées réactives de l'oxygène au sein de la cellule (Extrait de Powers et al., 2011).

Figure 10 : Interactions entre les modulateurs génétiques et/ou cliniques avec le stress oxydatif chez des enfants drépanocytaires S/S (Extrait de Gueye Tall et al., 2020).

Figure 11 : Relation VCO_2/VO_2 au cours d'un test d'effort cardio-pulmonaire (gauche) et relation V_E/VCO_2 pour un sujet sain (N) et un patient atteint d'insuffisance cardiaque (CHF) (droite) (Adapté de Mezzani, 2017)

Figure 12 : Structure (gauche) et ultrastructure (droite) du muscle squelettique (Illustration extraite de Marieb, 1998).

Figure 13 : Représentation schématique d'une molécule de myosine

Figure 14 : Représentation schématique de la structure d'une molécule d'actine associée au complexe troponine-tropomyosine.

Figure 15 : Résumé des événements ayant lieu au cours du couplage excitation/contraction musculaire (Illustration extraite de Marieb, 1998).

Figure 16 : Résumé des étapes de l'interaction entre l'actine et la myosine menant au raccourcissement du sarcomère et à la contraction musculaire (Extrait de Holmes & Geeves, 2000).

Figure 17 : Schéma simplifié de l'anatomie d'une unité motrice (Illustration extraite de Marieb, 1998).

Figure 18 : Schéma représentant le principe d'Henneman expliquant le recrutement des UMs en fonction de la force produite au cours d'une contraction. MN : motoneurone.

Figure 19 : Relation entre le recrutement des UMs et la force produite au cours d'une contraction isométrique du premier interosseux dorsal (Extrait de Parra et al., 2020).

Figure 20 : Résumé des causes centrales et de leurs interactions ayant pour conséquence une diminution de l'influx nerveux généré par les motoneurones. Adapté de Taylor et al., 2016).

Figure 21 : Modèle représentant les effets de l'ADP et du Pi sur l'interaction actine-myosine au cours de la contraction musculaire (Extrait de Debold, 2012).

Figure 22 : Relation entre l'intensité de l'exercice et la durée d'exercice au cours d'un exercice de cyclisme (Extrait de Sundberg et al., 2017).

Figure 23 : Effet de la localisation de l'électrode (gauche) et de la fréquence de décharge (droite) sur le signal sEMG obtenu au cours d'une contraction musculaire (Extrait de Konrad, 2005).

Figure 24 : Signal sEMG brut (gauche) puis après traitement RMS (droite) obtenu lors d'une contraction volontaire isométrique maximale du quadriceps (données personnelles).

Figure 25 : Relation entre la force produite et l'activité sEMG en fonction des conditions de contraction (Extrait de Konrad, 2005).

Figure 26 : Schéma du spectre de puissance obtenu à la suite de la transformation de Fourier du signal sEMG (Extrait de Konrad, 2005).

Figure 27 : Spectre de puissance obtenu par une transformée en ondelettes au cours d'une contraction isocinétique maximale (Extrait de Morel et al., 2015b)

Figure 28 : Résumé des perspectives scientifiques apportées par ce travail de thèse.

Listes des tableaux

Tableau 1 : Références pour l'interprétation des résultats obtenus au cours d'un test de marche de 6 minutes ou d'un test d'effort cardiopulmonaire. VO_2 : consommation en O_2 ; Fc : fréquence cardiaque ; P(A-a) O_2 : différence de tension en dioxygène alvéolo-artérielle ; PaS : pression artérielle systolique. Traduit de Connes et al., 2011.

Listes des abréviations

A

A/A : Sujet sain

A/S : Sujet porteur du trait drépanocytaire

ADP : Adénosine diphosphate

AOPP : Advanced oxidation protein products

ATP : Adénosine triphosphate

AVC : Accident vasculaire cérébral

B

B-HAD : 3-Hydroxyacyl-CoA déshydrogénase

BPCO : Bronchopathie chronique obstructive

C

Ca²⁺ : Ion calcium

CAT : Catalase

Cl⁻ : Ion chlore

CO₂ : Dioxyde de carbone

CRP : Protéine C réactive

CVIM : Contraction volontaire isométrique maximale

CVO : Crise vaso-occlusive

D

DHPR : Récepteur aux dihydropyridines

E

EMG : Electromyographie

EOR : Espèce réactive de l'oxygène

F

Fmax : Force maximale isométrique

G

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Globule rouge

H

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HbA : Hémoglobine A

HbC : Hémoglobine C

HbF : Hémoglobine fœtale

HbS : Hémoglobine S

HIIT : Exercice intermittent de haute intensité

HO· : Radical hydroxyle

HTAP : Hypertension artérielle pulmonaire

HU : Hydroxyurée

I

IL-6 : Interleukine 6

K

K⁺ : Ion potassium

M

MDA: Malondialdéhyde

MDF : Median power frequency

mTOR : Mammalian target of rapamycin

N

Na⁺: Ion sodium

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO : Monoxyde d'azote

NOX : NADPH Oxydase

O

O₂ : Dioxygène

O₂⁻ : Anion superoxyde

ONOO⁻ : Peroxynitrite

P

PA : Potentiel d'action

PCr : Phosphocréatine

PGC1- α : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

Pi : Phosphate inorganique

Q

QR : Quotient respiratoire

R

RMS : Valeur root mean square du signal électromyographique

RyR : Récepteur à la ryanodine

S

S/ β^0 : Patient drépanocytaire hétérozygote composite hémoglobine S/ β -thalassémie

S/C : Patient drépanocytaire hétérozygote composite hémoglobine S/hémoglobine C

S/S : Patient drépanocytaire homozygote

sEMG : Electromyographie de surface

SERCA : Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase

SNC : Système nerveux central

SOD : Superoxyde dismutase

SPIR : Spectroscopie proche infrarouge

SV1 : Premier seuil ventilatoire

sVCAM-1: Soluble Form of Vascular Cell Adhesion Molecule 1

T

T6M : Test de marche de 6 minutes

TECP : Test d'effort cardio-pulmonaire

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha

U

UM : Unité motrice

V

VCO₂ : Débit de dioxyde de carbone expiré

V_E : Volume d'air expiré

VEGF : Vascular endothelial growth factor

VL : *Vastus Lateralis*

VM : *Vastus Medialis*

VO₂ : Consommation en dioxygène

VO₂pic : Consommation pic en dioxygène

X

XO : Xanthine Oxydase

AVANT PROPOS

La drépanocytose désigne un ensemble de syndrome partageant une même mutation codant pour une hémoglobine mutée, l'hémoglobine S, et dont les formes les plus répandues sont la forme homozygote S/S et double hétérozygote composite S/C. L'hémoglobine S possède la capacité de polymériser au sein du globule rouge en condition désoxygénée modifiant ainsi sa morphologie. D'un point de vue clinique, ces modifications se traduisent par une anémie hémolytique marquée et des occlusions vasculaires aiguës provoquant des douleurs extrêmement importantes voire insupportables. Ces complications entraînent des atteintes multi-organiques ponctuelles et potentiellement létales telles que les syndromes thoraciques aigus, les séquestrations spléniques ou encore les accidents vasculaires cérébraux. Des complications chroniques, notamment une dysfonction cardiaque, dysfonction rénale et/ou une hypertension artérielle pulmonaire, peuvent également apparaître au cours de la vie impactant négativement l'état clinique des patients. Ainsi, les patients drépanocytaires se définissent par un tableau clinique sévère et complexe, qui varie en fonction de la forme de la maladie (S/S ou S/C), nécessitant ainsi une prise en charge thérapeutique spécifique. Bien que cette prise en charge se soient largement améliorée ces dernières décennies, ces patients restent caractérisés par une qualité de vie diminuée, une fatigue chronique, des syndromes dépressifs et une réduction de leur capacité à l'exercice.

D'un point de vue physiopathologique, les complications cliniques sont expliquées par l'interaction complexe entre un stress oxydatif exacerbé, une inflammation chronique et des altérations vasculaires et hémorhéologiques. Les modifications physiologiques induites par l'exercice physique sont susceptibles de favoriser l'apparition de crises vaso-occlusives

amenant les professionnels de santé à déconseiller l'exercice aux patients drépanocytaires. Par conséquent, ils sont caractérisés par une hypersédentarité qui, couplée aux altérations cardio-vasculaires, crée un cercle vicieux menant à la réduction de la capacité à l'exercice. Alors que l'implications des altérations cardio-vasculaires et respiratoires sont bien décrites dans ce processus, l'implication du muscle squelettique n'est pas encore totalement caractérisée dans le contexte de la drépanocytose. En effet, bien qu'elle soit une pathologie du globule rouge, le muscle squelettique drépanocytaire présente des altérations profondes à la fois au niveau histologique mais également fonctionnel. Chez les patients drépanocytaires, il est caractérisé par une amyotrophie, un remodelage profond de la microcirculation et une diminution de sa capacité à produire de la force. De plus, les activités de plusieurs enzymes impliquées dans le métabolisme aérobie sont diminuées dans le muscle squelettique des patients drépanocytaires. Enfin, des résultats pré-cliniques obtenus dans un modèle murin de drépanocytose ont mis en évidence une fatigabilité et une acidose accrue du muscle drépanocytaire sain au cours d'un exercice. Ainsi, bien qu'elles soient fortement suggérées par ces données, la présence d'une dysfonction musculaire à l'exercice ainsi que son implication dans la réduction de la capacité fonctionnelle n'ont pas encore été décrites chez les patients drépanocytaires. Par ailleurs, bien que ces altérations musculaires aient été mis en évidence dans la forme homozygote S/S de la maladie, il existe peu de données sur le muscle squelettique des patients S/C. Les études récentes ont montré un bénéfice certain de l'exercice chronique aérobie sur le muscle squelettique cependant il est nécessaire de caractériser plus précisément les altérations musculaires chez le patient drépanocytaire. Cela semble un prérequis à la mise en place de

protocoles de rééducation spécifiques au muscle squelettique et qui limiterait les complications cliniques provoquées par l'exercice.

Au cours d'un exercice physique, la production transitoire d'espèces pro-oxydantes est nécessaire à un fonctionnement musculaire normal, cependant un stress oxydatif chronique a été démontré comme délétère dans le muscle de patients atteints de pathologies chroniques. En effet, il serait fortement impliqué dans les phénomènes pathologiques de perte de masse musculaire ainsi que de la capacité à produire de la force. Plusieurs études suggèrent que le stress oxydatif pourrait être élevé dans le muscle drépanocytaire expliquant ainsi en partie les altérations observées. Chez les sujets sains, l'exercice chronique aérobie est connu pour améliorer la capacité antioxydante musculaire notamment par l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes. Cependant, les effets de ce type d'exercice sur le stress oxydatif musculaire n'ont pas encore été caractérisés dans la drépanocytose.

Ainsi, dans ce contexte, les objectifs principaux de cette thèse sont de 1) mettre en évidence une dysfonction musculaire et d'explorer ses déterminants au cours d'un exercice sous maximal chez des patients drépanocytaires S/S et S/C et de 2) déterminer les modifications provoquées par un exercice chronique aérobie sur le stress oxydatif au sein du muscle squelettique dans un modèle murin de la drépanocytose. Ainsi, ce travail est constitué d'une première étude clinique menée chez des patients drépanocytaires durant laquelle la réponse du muscle squelettique à un exercice physique et ses déterminants ont été étudiés. En parallèle, une seconde étude a été menée chez la souris drépanocytaires Townes, un modèle sévère de la

pathologie, afin d'évaluer les effets d'un entraînement aérobie de 8 semaines sur le stress oxydatif du muscle squelettique.

REVUE DE LITTERATURE

Chapitre 1 - LA PHYSIOPATHOLOGIE

DREPANOCYTAIRE

I- Généralités sur la drépanocytose

1- Historique

La première description d'un cas de drépanocytose a été faite en 1910 par un médecin de Chicago, James B. Herrick (Herrick, 2001). En effet, Herrick observa des globules rouges falciformes, *i.e.* ayant une forme particulière de faux, chez un jeune patient de 20 ans originaire des Caraïbes qui présentaient des douleurs musculaires, des difficultés respiratoires et des ulcères aux jambes. Ensuite, en 1917, Victor E. Emmel décrivit les mêmes modifications chez une patiente et son père (Emmel, 1917). Il découvrit également que tous les membres de cette famille souffraient d'une anémie sévère et que trois des filles étaient décédées de façon précoce. Il fut donc le premier à énoncer le caractère héréditaire de la pathologie, qui sera ensuite confirmé par les différents cas rapportés dans la décennie suivante. En 1933, l'hétérogénéité des étiologies au sein d'une même famille amena le Dr L. Diggs à distinguer les patients asymptomatiques, « latent sicklers », des patients symptomatiques, « active sicklers » (Serjeant, 2001). Il utilisa alors le terme de porteur du trait drépanocytaire et d'anémie falciforme pour désigner les patients asymptomatiques et symptomatiques, respectivement. En parallèle, Hahn et Gillespie montrèrent en 1924 qu'il était possible de falciformer des globules rouges en condition anoxique *in vitro* suivis par Scriver et Waugh qui observèrent le même

phénomène *in vivo* en induisant une ischémie temporaire au niveau du doigt d'un patient (Frenette & Atweh, 2007). En 1949, James Neel mit en évidence le caractère autosomique récessif de la transmission héréditaire de la pathologie (Neel, 1949). La même année, Pauling et Itano démontrèrent que les patients drépanocytaires produisaient une hémoglobine, l'hémoglobine S (HbS), dont la structure est différente de celle de sujet sain, appelée hémoglobine A (HbA). Ce fut la première fois que la drépanocytose fut caractérisée comme une maladie moléculaire (Pauling et al., 1949). Le caractère moléculaire de la pathologie a été confirmé en 1956 lorsqu'Ingram observa que l'HbS migrerait moins vite que l'HbA au cours d'une électrophorèse, et qu'elle était chargée positivement contrairement à l'HbA (Ingram, 1956). Puis, en 1957, il mit en évidence que la différence entre ces deux hémoglobines est une valine remplaçant un acide glutamique (Ingram, 1957). Ce n'est seulement qu'en 1977 que Marotta mettra en évidence que ce changement est causé par la substitution d'une adénine par un uracile en 7^{ème} position de l'ARNm de l'HbS (Marotta et al., 1977; Ron, 2012).

2- Définition

La drépanocytose est une maladie monogénique caractérisée par la substitution d'une adénine par une thymine en 7^{ème} position du gène codant pour la chaîne β de l'hémoglobine, situé sur le chromosome 11. Au niveau protéique, cette mutation provoque le remplacement d'un acide glutamique par une valine sur la chaîne β de l'HbS, lui conférant des propriétés particulières par rapport à l'HbA. En effet, contrairement à l'acide glutamique qui est hydrophile, la valine est un acide aminé hydrophobe capable de se lier à d'autres acides aminés

hydrophobes en conditions désoxygénées (Vekilov, 2007). Par conséquent, des polymères d'HbS se forment à l'intérieur du globule rouge (GR), modifiant sa morphologie en lui donnant cette forme de faux allongée caractéristique de la pathologie (Figure 1). Cette mutation s'exprime selon un mode autosomique co-dominant (Kato et al., 2018) ainsi l'association allélique au niveau génétique peut résulter en des phénotypes très différents allant d'un phénotype asymptomatique jusqu'à des phénotypes cliniquement sévères. Dans ce contexte, les porteurs du trait drépanocytaire, de génotype hétérozygote A/S, sont considérés comme asymptomatiques, malgré un taux de 35 à 39% d'HbS, alors que la forme homozygote (génotype S/S), caractérisée par des taux d'HbS d'environ 80%, s'accompagne d'un phénotype clinique grave. En plus de la forme homozygote S/S, il existe d'autres syndromes drépanocytaires de sévérité clinique variée constitués de l'association entre l'HbS et d'autres variants de l'hémoglobine.

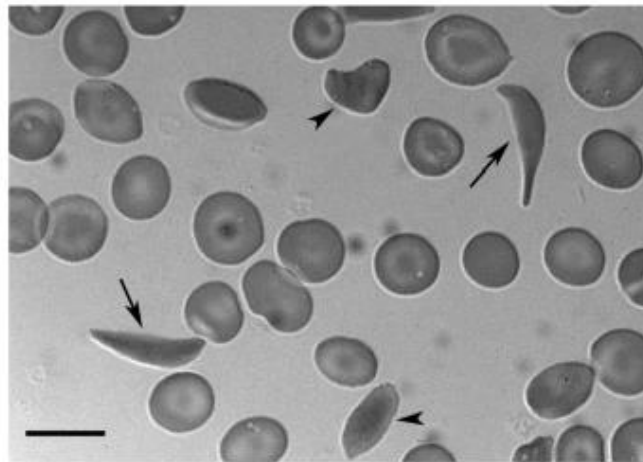


Figure 1 : Frottis sanguin d'un patient drépanocytaire S/S (Extrait de Frenette & Atweh, 2007). Les GRs falciformés sont désignés par une flèche.

La forme homozygote S/S est la forme la plus répandue cependant les syndromes caractérisés par les génotypes S/C et S/ β^0 constituent une part non négligeable des patients (Piel, Howes, et al., 2013; Weatherall, 2010). La forme S/ β^0 se caractérise par l'association entre la mutation codant pour l'HbS et la β -thalassémie, qui correspond à une absence de production de la chaîne β -globine (Figure 2). Ainsi, les patients produisent uniquement de l'HbS et sont donc caractérisés par une sévérité clinique semblable à celle des patients S/S (Kato et al., 2018). La forme S/C consiste en l'association de deux mutations codant pour deux hémoglobines différentes : l'HbS et l'hémoglobine C (HbC) (Figure 2). L'association de ces deux hémoglobines au sein du GR a des conséquences physiopathologiques spécifiques qui résultent en un tableau clinique grave et particulier à ce génotype (Lionnet et al., 2012).

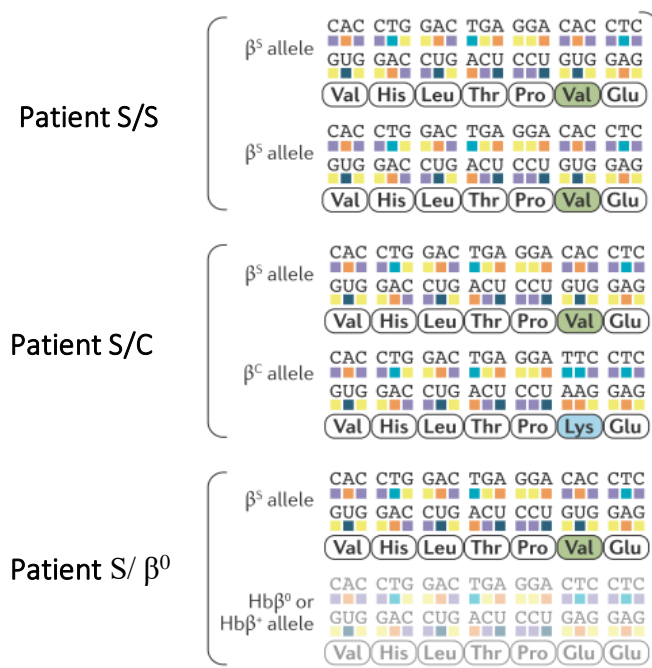


Figure 2 : Profils alléliques des patients S/S, S/C et S/ β^0 (Extrait de Kato et al., 2018)

Enfin, il est possible de trouver des associations entre l'HbS et des variants de l'hémoglobine plus rare, tels que l'hémoglobine S-Antilles ou D-Punjab (Rees et al., 2010). Ces variants de l'hémoglobine présentent des mutations qui ont également pour conséquence une sévérité clinique importante lorsqu'elles sont associées à l'HbS (Rees et al., 2010).

3- Epidémiologie

La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue dans le monde, avec 5 millions de porteurs selon l'OMS (Colombatti et al., 2013), cependant sa répartition géographique est inégale (Rees et al., 2010). En effet, en Afrique, il est estimé que 230 000 nourrissons naissent chaque année avec la drépanocytose, soit 75% des nouveaux nés drépanocytaires à l'échelle mondiale (Piel et al., 2013b). Cette répartition s'explique par la résistance procurée par la forme hétérozygote A/S contre le paludisme, qui est une cause de mortalité importante dans ces régions (Piel et al., 2010). Cette résistance pourrait s'expliquer par une réponse immunitaire induite par l'HbS accrue, une clairance plus importante des globules rouges contaminés et/ou un blocage de la croissance du virus (Taylor et al., 2012). En conséquence, cela permet le maintien de la mutation pour l'HbS dans la population et donc sa transmission à travers les générations. Il est estimé que 3,5 millions de nouveaux nés naissent avec la mutation pour l'HbS en Afrique (Piel et al., 2013b). La pathologie est également très répandue aux Etats-Unis, dans les Caraïbes et au Brésil à la suite des forts déplacements de population, provoqués par la traite négrière (Jones-Lecointe et al., 2008; Kéclard et al., 1997). De plus, les mouvements migratoires entre l'Afrique et l'Europe de l'ouest ont également augmenté le nombre de

malades atteints d'un syndrome drépanocytaire (Ezekekwa et al., 2018). En France, la drépanocytose est également la première maladie génétique sur le territoire avec une concentration des cas en Ile-de-France et dans les Antilles (de Montalembert et al., 2006). En effet, l'Inserm estimait en 2013 qu'un enfant sur 1900 naissait avec la drépanocytose sur le territoire national avec une prévalence très importante dans les Antilles (1/419) et en Ile-de-France (1/874).

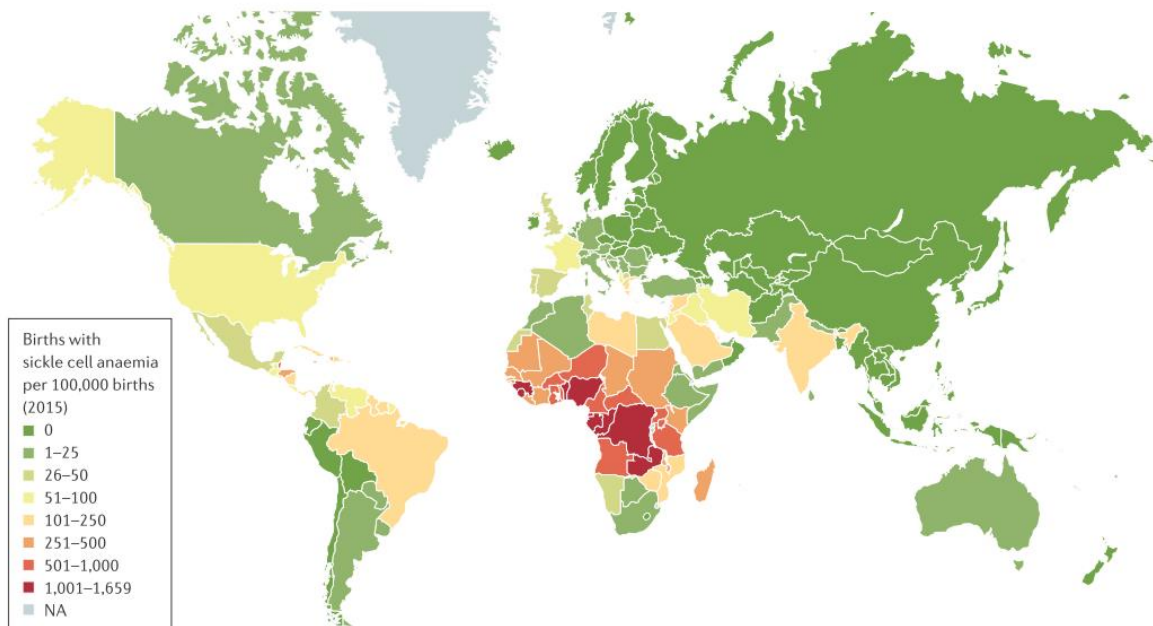


Figure 3 : Nombres de naissances de nourrissons drépanocytaires pour 100 000 naissances par pays en 2015 (Extrait de Kato et al., 2018)

II- Physiopathologie drépanocytaire

Bien qu'étant une maladie monogénique de l'hémoglobine, la drépanocytose se caractérise par un tableau clinique complexe, regroupant des complications aiguës potentiellement létales auxquelles s'ajoutent des complications chroniques multi-organiques.

1- Complications cliniques

La principale complication clinique observée chez les patients drépanocytaires est la crise vaso-occlusive (CVO). Les CVOs sont des événements qui se caractérisent par des douleurs insupportables, décrites comme semblables à plusieurs fractures par les patients (Jacob, 2001), et qui nécessite une hospitalisation. Ces crises sont traitées à l'aide d'analgésiques puissants couplés à des anti-inflammatoires, voire une sédation pour les crises les plus graves (Jacob, 2001; Pinto et al., 2019; Uwaezuoke et al., 2018). La deuxième cause d'hospitalisation pour les patients drépanocytaires est le syndrome thoracique aigu, qui se définit comme l'apparition d'un infiltrat pulmonaire associé à de la fièvre et/ou des symptômes respiratoires, tels que des douleurs thoraciques, de la dyspnée ou encore de la toux (Farooq et al., 2018). La survenue d'un syndrome thoracique aigu peut avoir pour conséquence une détresse respiratoire aiguë, des lésions pulmonaires importantes voire une défaillance multi-organique (Farooq et al., 2018; Novelli & Gladwin, 2016). Ainsi, elle constitue la première cause de mortalité chez les patients drépanocytaires (Gray et al., 1991). L'apparition d'un syndrome thoracique aigu peut faire suite à une infection pulmonaire mais également à la formation d'un embolisme lipidique causé par un infarctus de la moelle osseuse ou bien encore à une CVO au niveau de la circulation pulmonaire (Farooq et al., 2018; Novelli & Gladwin, 2016). Cependant, la majorité des CVOs sont silencieuses et, même si elles ne provoquent pas de douleurs, elles ont pour conséquence des lésions tissulaires. Ainsi, la répétition de ces crises silencieuses endommage progressivement les tissus et des dysfonctions de plusieurs organes apparaissent chez les patients (Serjeant, 2013). Dès le plus jeune âge, il est possible d'observer une splénomégalie qui se transforme ensuite en asplénie fonctionnelle vers l'âge de 5 ans dont

la principale cause est la répétition de CVOs silencieuses (Brousse et al., 2014). Ce mécanisme physiopathologique peut également être observé au niveau osseux où la répétition de CVOs dans la moelle osseuse crée des lésions chez 10% des patients drépanocytaires (Vanderhave et al., 2018). Progressivement, ces lésions entraînent une ostéonécrose de la tête fémorale qui va être résolue par la pose d'une prothèse de hanche. Enfin, la répétition de ces crises silencieuses peut également provoquer des rétinopathies chez les patients drépanocytaires dont la conséquence la plus grave est la cécité (Ribeiro et al., 2017). De façon plus particulière, les patients S/C sont caractérisés par une prévalence importante des glomérulopathies, ostéonécroses et rétinopathies, comparés aux patients S/S (Lemonne et al., 2014a; Lionnet et al., 2012), qui pourrait être expliquée par les anomalies hémorhéologiques associées à ce génotype, dont l'hyperviscosité sanguine (Lemonne et al., 2014b). Les patients drépanocytaires peuvent également développer une vasculopathie qui serait responsable d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP), d'accidents vasculaires cérébraux (AVCs), d'ulcères de jambes et de priapisme (Kato et al., 2007, 2017; Pinto et al., 2019). L'HTAP touche 6 à 10% des patients drépanocytaires (Castro et al., 2003; Parent et al., 2011) et est associée à une diminution de la capacité fonctionnelle du patient drépanocytaire (Anthi et al., 2007; Machado et al., 2005; Minniti et al., 2009) ainsi qu'à une mortalité accrue (Barst et al., 2010; Gladwin et al., 2004). Au niveau cérébral, la vasculopathie est associée à un risque accru d'AVC ischémique dans l'enfance et aux alentours de 40 ans (Connes, et al., 2013a; Ohene-Frempong et al., 1998). Ces AVCs d'origine ischémique sont provoqués par la formation d'une sténose au niveau d'une artère cérébrale, sur laquelle vient s'ajouter l'apparition d'un thrombus (Merkel et al., 1978; Rothman et al., 1986; L. S. Williams et al., 1997). Enfin, le développement de la vasculopathie

provoque une augmentation du débit sanguin au niveau des reins ce qui endommage progressivement les glomérules (Nath & Hebbel, 2015). De plus, la libération de fer et l'inflammation consécutive à l'hémolyse entraînent également des lésions rénales qui conduisent à l'apparition progressive d'une dysfonction du rein chez les patients drépanocytaires (Nath & Hebbel, 2015; Serjeant, 2013). Ces complications cliniques graves ont pour conséquence une espérance de vie très faible pour les patients drépanocytaires.

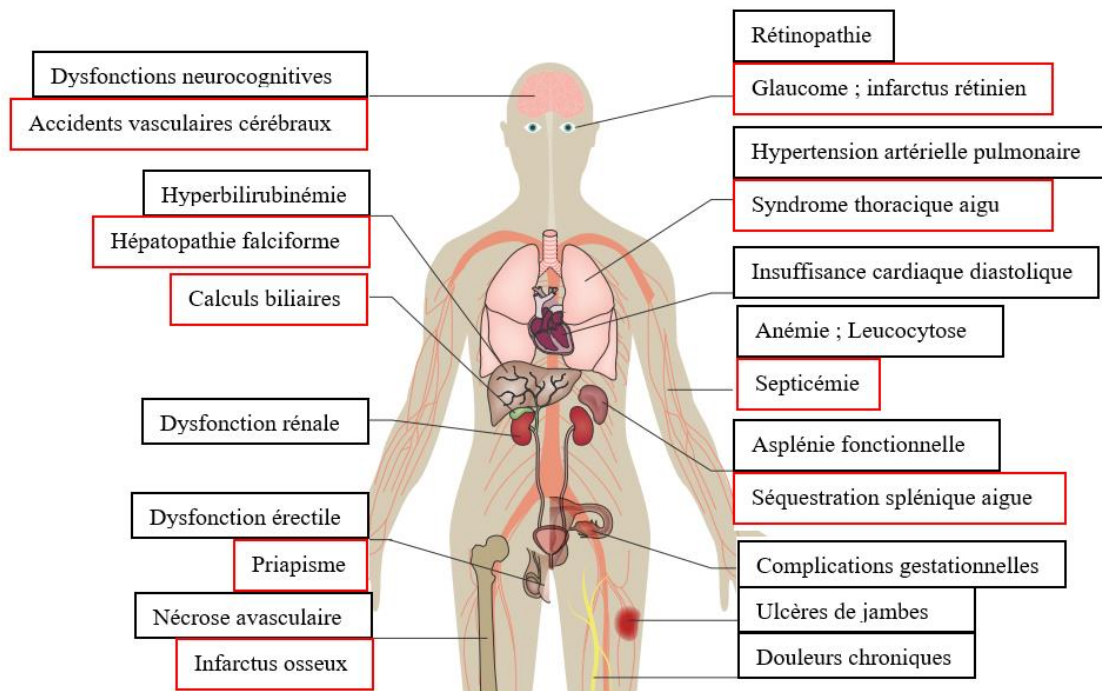


Figure 4 : Résumé des différentes complications cliniques présentes dans la drépanocytose (Adapté de Kato et al., 2018). Les complications aiguës sont désignées par un contour rouge et les complications chroniques par un contour noir.

En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé estime, qu'en Afrique, 50 à 80 % des enfants drépanocytaires décèdent avant l'âge de 5 ans, ce qui serait expliquée par une absence de prise en charge spécifique. A l'inverse, dans les pays développés, l'espérance de vie des

patients de 14 ans dans les années 70 à environ 60 ans actuellement (Elmariah et al., 2014). Cette forte augmentation de l'espérance de vie des patients drépanocytaires est expliquée à la fois par l'amélioration de la prise en charge mais aussi par une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques de la maladie.

2- Mécanismes de falciformation

L'hémoglobine est une protéine homotétramérique composée de 4 chaînes protéiques, 2 chaînes α et 2 chaînes β . Au niveau de la chaîne β de l'HbS, la valine modifie les propriétés polaires et de charge de la molécule ce qui entraîne des modifications de conformation de l'hémoglobine, notamment en conditions désoxygénées (Das et al., 2017). Ce changement conformationnel va libérer cette valine qui va former des ponts avec les acides aminés hydrophobes de la chaîne β des autres molécules d'hémoglobine, notamment la phénylalanine β^{85} et la leucine β^{88} (Labbé & Elion, 2005; Vekilov, 2007). Ainsi, les molécules d'HbS s'organisent en tétramères qui se lient entre eux pour former des fibres rigides à l'intérieur du GR (Figure 5), modifiant ainsi sa morphologie lui donnant une forme de faux : c'est la falciformation. Les GR falciformés ont une déformabilité et une capacité à transiter au sein des vaisseaux sanguins de plus petit diamètres réduite. Ce processus de falciformation et ses conséquences sur le GR vont être à

l'origine des deux principales complications cliniques observées dans la drépanocytose : l'hémolyse et les CVOs (Vekilov, 2007).

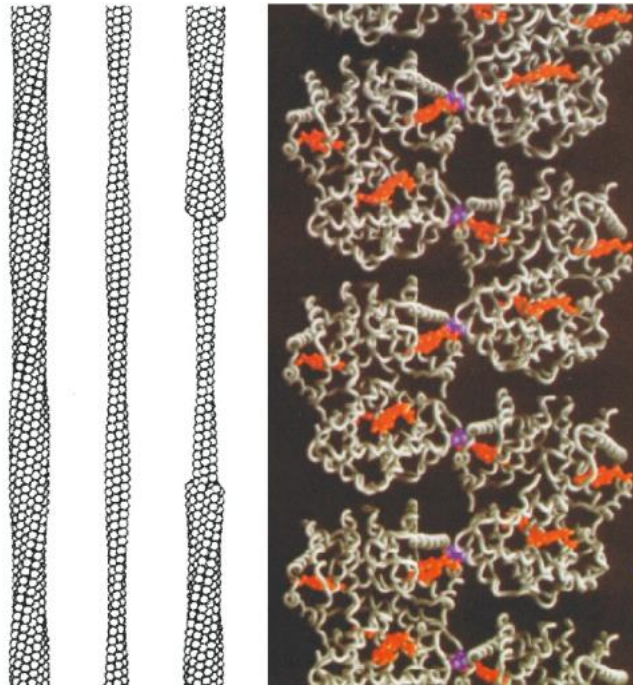


Figure 5 : Schéma d'une fibre formée par la polymérisation de l'HbS en condition désoxygénée (gauche) et structure atomique d'un polymère de désoxy-HbS obtenue par cristallographie (droite) (Extrait de Eaton & Bunn, 2017).

Il existe plusieurs facteurs pouvant influencer le degré de polymérisation de l'HbS à l'intérieur du GR. Un premier facteur est la concentration en HbS : en effet, l'augmentation du nombre de tétramères d'HbS augmente la probabilité d'interaction entre eux et donc la vitesse de polymérisation. Dans la drépanocytose, la perméabilité membranaire ionique est altérée augmentant les mouvements d'eau en dehors du GR et donc sa déshydratation (Rees & Gibson, 2012). Par conséquent, le GR drépanocytaire va être caractérisé par un état d'hydratation augmentant la concentration en HbS et favorisant sa polymérisation. Chez les patients drépanocytaires S/C, ce type de phénomène est prépondérant dans la physiopathologie associée

à ce génotype. En effet, l'HbC a la particularité de cristalliser à l'intérieur du GR en conditions oxygénée et désoxygénée (Nagel et al., 2003) et la présence de ce variant de l'hémoglobine est associée à une activation plus importante des co-transporteurs K^+/Cl^- (Fabry et al., 2000; Olivieri et al., 1992). Cette activation a pour conséquence une sortie en K^+ et une déshydratation importante du GR (Brugnara, 2018; Hannemann et al., 2011) augmentant la concentration intra-érythrocytaire en HbS, ce qui accroît la probabilité de polymérisation et donc de falciformation des GR. Un second facteur est la diminution de l'affinité de l'hémoglobine pour le dioxygène (O_2) provoquée par plusieurs facteurs environnementaux. En effet, les patients drépanocytaires sont caractérisés par une hypoxie chronique entraînant une augmentation de la pression partielle en dioxyde de carbone (CO_2), de la concentration intra-érythrocytaire en 2,3-diphosphoglycérate et une acidose. Ces trois molécules ou phénomènes diminuent l'affinité de l'hémoglobine pour l' O_2 par l'effet Bohr (MacDonald, 1977) ou de façon allostérique (Benesch & Benesch, 1967). Par conséquent, cela va favoriser la forme désoxygénée de l'HbS et donc sa polymérisation au sein du GR (Pianosi et al., 1993)

3- Hémolyse

Le processus de polymérisation de l'HbS est réversible et lors de la réoxygénation, les GR vont retrouver leur forme initiale de disque biconcave. Cependant, ce processus de falciformation entraîne des dommages au niveau de la membrane plasmique du GR (Barabino et al., 2010) (Figure 6). La répétition des cycles de désoxygénation-réoxygénation endommage progressivement la membrane plasmique jusqu'à ce que la falciformation du GR devienne irréversible. Ces dommages causent des anomalies de la bicouche lipidique (Stuart & Nagel,

2004) ainsi qu'une rigidification de la membrane rendant les GR plus fragiles face aux contraintes mécaniques liées au flux sanguin (Barabino et al., 2010). La durée de vie d'un GR drépanocytaire est donc très fortement réduite : 15 jours contre 120 jours pour un GR contenant exclusivement de l'HbA (McCurdy & Sherman, 1978 ; Shemin & Rittenberg, 1946). Ainsi la drépanocytose est caractérisée par une hémolyse très importante. Les dommages membranaires provoquent l'externalisation de la phosphatidylsérine qui est un marqueur de sénescence cellulaire et un signal de phagocytose par les cellules immunitaires (Wu et al., 2006). L'élimination de ces GR drépanocytaires par les cellules immunitaires s'effectue au niveau du foie et de la rate, qui sont les sites principaux de l'hémolyse extravasculaire qui participe à l'élimination de 2/3 des globules rouges (Crosby, 1955). Le tiers restant correspond à l'hémolyse intravasculaire, i.e. la lyse intravasculaire des GR (Crosby, 1955). L'hémolyse intravasculaire, mesurée par la concentration en hémoglobine et/ou le pourcentage de réticulocytes (Robert P. Hebbel, 2011), est très présente chez les patients S/S, contrairement aux patients S/C (da Guarda et al., 2020; Dubert et al., 2017; Möckesch al., 2017a; Möckesch al., 2017b).

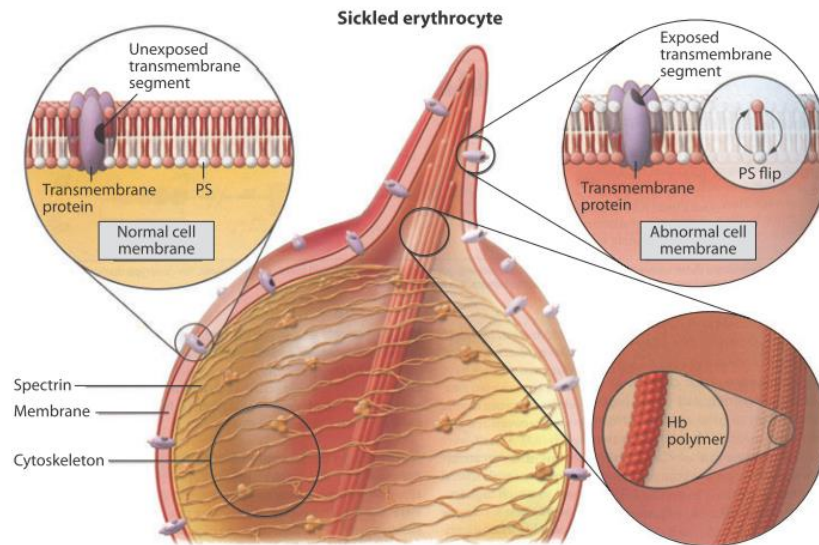


Figure 6 : Modifications de la membrane plasmique du GR induite par la formation de polymères d'HbS (Extrait de Barabino et al., 2010). Hb : Hémoglobine ; PS : Phosphatidylsérine.

4- Conséquences cliniques de l'hémolyse

L'hémolyse chronique entraîne la libération du contenu intra-érythrocytaire, notamment l'hémoglobine et l'hème, dans le compartiment sanguin provoquant l'apparition d'un environnement pro-inflammatoire et pro-oxydant (Nader et al., 2020). Dans un environnement non pathologique, l'hémoglobine et l'hème libérés sont séquestrés par l'haptoglobine et l'hémopexine, respectivement, limitant ainsi leur toxicité au niveau vasculaire (Schaer et al., 2014). Cependant, la quantité de ces deux protéines est réduite chez les patients drépanocytaires (A. Smith & McCulloh, 2015). Par conséquent, seule une faible partie de l'hémoglobine et de l'hème libéré est séquestré tandis que le reste possède la capacité de réagir avec les différentes molécules présentes au niveau sanguin. L'hémoglobine réagit de façon

importante avec le monoxyde d'azote (NO) ce qui réduit fortement sa biodisponibilité au niveau sanguin (Lobie & Elion, 2005 ; Wood et al., 2008). De plus, la lyse des GR entraîne la libération d'arginase hydrolysant l'arginine, un précurseur du NO, ce qui participe à la diminution de sa biodisponibilité (Kato et al., 2007). Cette diminution est impliquée dans l'apparition d'une vasculopathie au niveau de la macro et de la microcirculation sanguine (Kato et al., 2017) dont les conséquences sont une altération de la vasomotricité ainsi qu'une rigidification des vaisseaux sanguins (Kato et al., 2018; Möckesch al., 2017a; Mohan et al., 2011). Ces différents mécanismes sont résumés dans la figure 7.

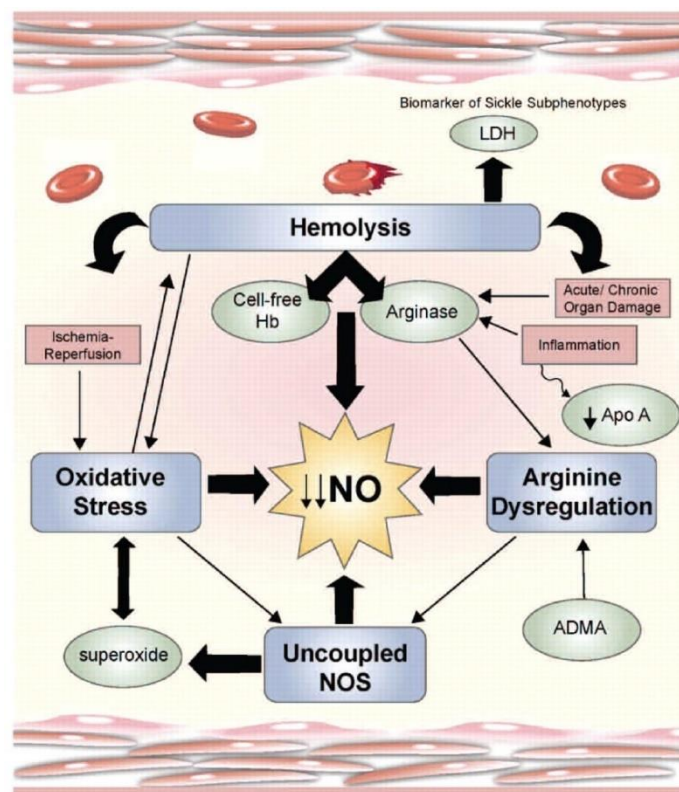


Figure 7 : Conséquences intravasculaires de l'hémolyse chronique (Extrait de Morris, 2011). Apo-A : Apolipoprotéine A ; Hb : Hémoglobine A ; LDH : Lactate déshydrogénase ; NO : Monoxyde d'azote ; NOS : NO synthase.

Il semblerait que ces altérations soient plus marquées chez les patients drépanocytaires S/S par rapport aux sujets S/C (Dubert et al., 2017; Möckesch al., 2017a; Möckesch al., 2017b; Mohan et al., 2011) et cette différence pourrait être expliquée en partie par l'hémolyse moins marquée observée chez les patients S/C. L'hème et le fer libérés par l'hémolyse sont à l'origine de nombreux processus pro-inflammatoires vasculaires. En effet, l'hème active l'endothélium vasculaire et entraîne l'augmentation de l'expression de molécules d'adhésion cellulaire (Wagener et al., 1997, 2001) et de la production de cytokines pro-inflammatoires (Natarajan et al., 2007). De plus, il semblerait que l'activation endothéliale induite par l'hème soit fortement impliquée dans une autre complication clinique : les CVOs (Adisa et al., 2013; Belcher et al., 2014; Ghosh et al., 2013).

5- Crises vaso-occlusives

Les CVOs se définissent comme des événements ischémiques locaux provoqués par l'accumulation de cellules sanguines à l'intérieur des vaisseaux sanguins. Les cellules se retrouvent donc en anoxie pendant un temps plus ou moins long entraînant ainsi leur mort et donc des dommages au niveau tissulaire. Comme explicité précédemment, une grande majorité des CVOs sont silencieuses cependant les crises les plus graves entraînent des douleurs très importantes chez le patient, pouvant même mener à l'hospitalisation (Alleyne & Thomas, 1994; Ballas & Delengowski, 1993; Brozović et al., 1987; Serjeant et al., 1994). Une des premières hypothèses pour expliquer la survenue de ces crises serait que la libération de l'O₂ par l'hémoglobine au niveau des tissus favoriserait la polymérisation de l'HbS et donc sa

falciformation. Ainsi, les GR falciformés, ayant un diamètre de 7-8 μm , ne seraient plus suffisamment déformables pour transiter dans les capillaires de plus petit diamètre, autour de 4 μm , et s'accumuleraient causant ainsi l'obstruction des vaisseaux sanguins. Cependant, la vitesse de polymérisation de l'HbS est supérieure au temps de transit du GR au niveau des capillaires (Kaul et al., 2009) et donc la falciformation seule ne permet pas d'expliquer l'apparition de CVOs. En effet, les mécanismes d'apparition de ces crises sont complexes et impliquent à la fois des GR discoïdes et falciformés mais également les globules blancs (Figure 8). L'activation de l'endothélium provoquée par la libération d'hème favorise l'interaction entre celui-ci et les globules blancs et donc la fixation des globules blancs à l'endothélium, particulièrement dans des zones où le flux sanguin est faible (Kaul et al., 1995). De plus, contrairement aux GR sains, les globules rouges matures et les réticulocytes drépanocytaires ont la capacité de se lier à l'endothélium (Frenette, 2002; Hebbel et al., 1980; Hoover et al., 1979) mais aussi aux globules blancs (Chaar et al., 2010). Dans les veinules post capillaires, l'adhérence accrue de ces cellules sanguines a pour conséquence leur fixation à l'endothélium et la formation progressive d'un agrégat cellulaire réduisant la lumière du vaisseau et le flux sanguin. Ainsi, le temps de transit des GR augmente entraînant une libération accrue en O_2 et une augmentation de la forme désoxygénée de l'HbS. Des polymères d'HbS ont donc la capacité de se former à l'intérieur du GR et provoquer sa falciformation. Les GR falciformés peu déformables n'auront plus la possibilité de transiter par les vaisseaux dont la lumière est réduite par l'agrégat formé par les autres cellules et va donc se retrouver piégé. Le flux sanguin

est donc bloqué par cet agrégat mélangeant cellules sanguines fixées à l'endothélium et GR falciformés provoquant une ischémie locale et des lésions tissulaires (Frenette, 2002).

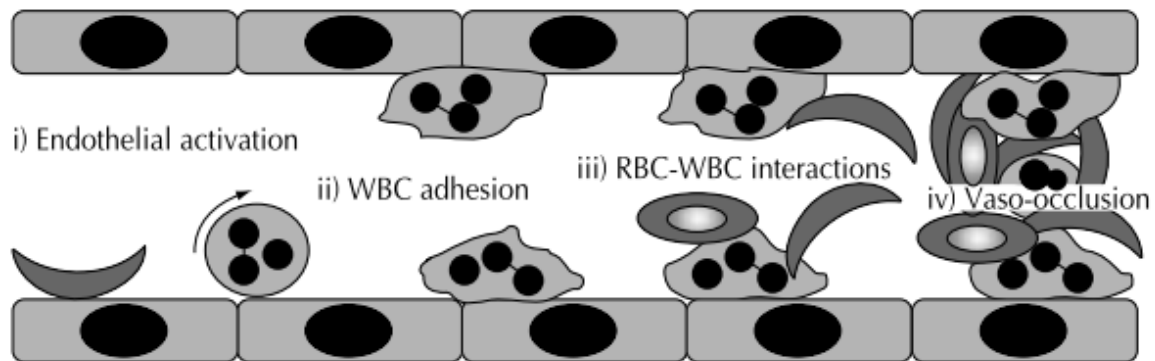


Figure 8 : Etapes de l'interaction des différentes cellules sanguines menant à l'occurrence d'une CVO (Extrait de Frenette, 2002)

Les CVOs sont, par nature, quasi-imprévisibles mais il semblerait qu'un environnement froid ainsi qu'un stress psychologique soient des facteurs déclencheurs de ces événements (Resar & Oski, 1991; Tewari et al., 2015). En effet, ces deux phénomènes ont pour conséquence une vasoconstriction importante et maintenue dans le temps qui diminue de façon significative le flux sanguin au niveau de la microcirculation (Veluswamy et al., 2020). Cela augmenterait le temps de transit des GRs au sein des vaisseaux de grands diamètres favorisant ainsi la désoxygénation de l'hémoglobine et leur falciformation. Ces GRs déjà falciformés se retrouveraient bloqués dans la microcirculation et déclencheraient une CVO. Au niveau tissulaire, ces crises vont entraîner une réaction inflammatoire locale ainsi que l'activation des fibres nerveuses III/IV, responsable d'un signal nerveux douloureux (Pollak et al., 2014; Yam et al., 2018). De plus, les crises silencieuses libèrent des métabolites et des médiateurs

inflammatoires de façon chronique qui stimulent les fibres nerveuses nociceptives et provoquent un syndrome de douleur chronique chez le patient (Smith et al., 2008; Uhelski & Simone, 2019; Wilkie et al., 2010). Les patients drépanocytaires peuvent également avoir une hyperalgésie dont les causes sont une sensibilisation des fibres nerveuses nociceptives périphériques, via des médiateurs inflammatoires, une hypersensibilité du système nerveux central (SNC) ou l'utilisation importante d'opiacés pour soulager les douleurs chroniques (Ezenwa et al., 2016; Uhelski & Simone, 2019; Yam et al., 2018). Il semblerait également qu'une neuropathie périphérique puisse se développer chez les patients drépanocytaires entraînant également des douleurs chroniques cependant les mécanismes d'apparition de ces complications sont encore peu connus (Ballas & Darbari, 2013; Ezenwa et al., 2016; Okuyucu et al., 2009; Sharma & Brandow, 2020).

III- Le stress oxydatif dans la physiopathologie drépanocytaire

1- Généralités sur le stress oxydatif

Le fonctionnement cellulaire aérobie entraîne la production d'espèces chimiques dérivés de l'oxygène appelées espèces réactives de l'oxygène (EOR) qui comprend les radicaux superoxyde O_2^- et hydroxyle $HO\cdot$ ainsi que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . D'un point de vue chimique, $HO\cdot$ possède une réactivité importante avec les différentes molécules biologiques et une demi-vie extrêmement courte (Halliwell & Gutteridge, 2015). A l'inverse, O_2^- et H_2O_2 sont caractérisés par une réactivité faible mais une demi-vie beaucoup plus longue leur donnant la capacité de diffuser entre les cellules et d'agir comme un messager chimique dans plusieurs

processus physiologiques (Le Moal et al., 2017). La première EOR produite au niveau cellulaire est O_2^- à la suite de la réduction d'un atome d'oxygène par un électron. Celui-ci va ensuite être transformé par dismutation en H_2O_2 qui va ensuite réagir avec les atomes de fer et/ou O_2^- pour produire des radicaux $HO\cdot$ via la réactions de Fenton dans le cycle d'Haber-Weiss (Imlay, 2003; Kehrer, 2000). Ces radicaux possèdent un pouvoir oxydant important et ils réagissent très rapidement avec les différentes molécules biologiques ce qui a pour effet de les endommager progressivement (Imlay, 2003). Plusieurs sites de production d' O_2^- ont été identifiés au niveau cellulaire dont la contribution varie en fonction des conditions auxquelles la cellule est soumise. En conditions normales, le principal site de production d' O_2^- est la chaîne respiratoire mitochondriale : en effet, une partie des électrons transitant par les complexes de la chaîne respiratoire vont réagir avec l' O_2 présent au niveau de la mitochondrie (Murphy, 2009). En conditions hypoxiques, bien que la concentration en O_2 soit diminuée, les mitochondries continuent de produire des EORs (Guzy et al., 2005; Guzy & Schumacker, 2006) mais elles ne constituent plus le principal site de production. En effet, dans ces conditions, elles sont remplacées par une enzyme, la xanthine oxydase (XO), transformant la xanthine en acide urique en présence d' O_2 , ce qui le réduit en O_2^- (Griguer et al., 2006; Lushchak, 2014; Nanduri et al., 2013; Poss et al., 1996). La mitochondrie et la XO ne sont pas les seuls sites cellulaires de production d'anion O_2^- , en effet, il existe une autre enzyme, la NADPH oxydase (NOX), qui produit également de l' O_2^- à partir du NADPH (Lushchak, 2014). La production d'EORs par la NOX joue un rôle physiologique important dans les phagocytes, où elle est fortement impliquée dans la destruction des bactéries (Bedard & Krause, 2007), ou encore dans le muscle squelettique dans l'adaptation à l'entraînement aérobie (Henríquez-Olguín et al., 2016). Bien

que les EORs jouent un rôle physiologique dans plusieurs types cellulaires, leur excès peut être dommageable pour les cellules (Halliwell & Gutteridge, 2015; Imlay, 2003; Tan et al., 2018) ainsi les cellules possèdent des systèmes antioxydants permettant de limiter la concentration en EORs (Le Moal et al., 2017; Lushchak, 2014). Ces systèmes antioxydants sont divisés en deux catégories : les systèmes enzymatiques et les systèmes non-enzymatiques. Les enzymes antioxydantes catalysent les différentes réactions menant de l' O_2^- jusqu'à la formation de molécules d'eau. La première enzyme impliquée est la superoxyde dismutase (SOD) qui est une métalloprotéine catalysant la dismutation de l' O_2^- en H_2O_2 . Elle se présente sous trois isoformes dont deux sont intracellulaires, la CuZnSOD et la MnSOD, et la troisième, la SOD3, qui est extracellulaire (Halliwell & Gutteridge, 2015; Inoue et al., 2003). La CuZnSOD se situe dans le cytosol et le lumen des mitochondries alors que la MnSOD est localisée dans la matrice mitochondriale et ainsi, ces deux isoformes transforment directement les anions O_2^- produits au niveau mitochondrial et cytosolique en H_2O_2 . Ce peroxyde va ensuite être transformé en eau par deux enzymes : la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) permettant ainsi d'éviter la transformation du H_2O_2 , peu réactif, en radical $HO\cdot$, qui possède une réactivité chimique importante (Halliwell & Gutteridge, 2015). En effet, une partie des H_2O_2 produits vont réagir avec des atomes de fer ou des anions O_2^- pour former des radicaux $HO\cdot$ qui oxydent les molécules biologiques et qui ne peuvent pas être transformés par les systèmes antioxydants enzymatiques (Lushchak, 2014). Ainsi, en plus des systèmes antioxydants enzymatiques, la cellule possède des petites molécules non-enzymatiques qui ont une action antioxydante et qui transforment les radicaux $HO\cdot$ en espèces chimiquement inertes (Brigelius-Flohé & Traber, 1999; Halliwell & Gutteridge, 2015; Le Moal et al., 2017). Parmi ces molécules, le glutathion

joue un rôle important à la fois en tant qu'antioxydant puissant et cofacteur de la GPx mais également en tant que capteur de l'état d'oxydoréduction de la cellule (Lushchak, 2012). Ce sont les vitamines C et E, apportées par l'alimentation qui vont réagir avec les radicaux HO· et limiter leur action oxydante, notamment sur les lipides de la membrane plasmique (Spoelstra-de Man et al., 2018; Viitala & Newhouse, 2004). Ainsi, les systèmes pro-oxydant et antioxydant fonctionnent conjointement pour produire et maintenir une concentration en EORs permettant d'assurer un fonctionnement cellulaire normal. Un déséquilibre de cette balance entraîne une situation appelée stress oxydatif dans laquelle les EORs endommagent progressivement les cellules. Plus précisément, le stress oxydatif se définit comme une situation dans laquelle la concentration en EORs est augmentée de façon transitoire ou chronique perturbant le métabolisme cellulaire, sa régulation et endommageant les différents composants cellulaires (Lushchak, 2011). Ce stress oxydatif peut être la cause de plusieurs modifications intracellulaires : 1) une augmentation de la production en EORs et/ou de l'auto-oxydation de certaines espèces chimiques, 2) une déplétion des réserves en antioxydants non-enzymatiques, 3) une inactivation des enzymes antioxydantes, 4) une baisse de la production des systèmes antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques et 5) enfin une combinaison d'au moins deux de ces altérations (Lushchak, 2014). Ces dernières années, il a été démontré qu'un stress oxydatif chronique contribuait de façon importante au vieillissement ainsi qu'à la physiopathologie de plusieurs maladies chroniques (Choi et al., 2016; Liguori et al., 2018).

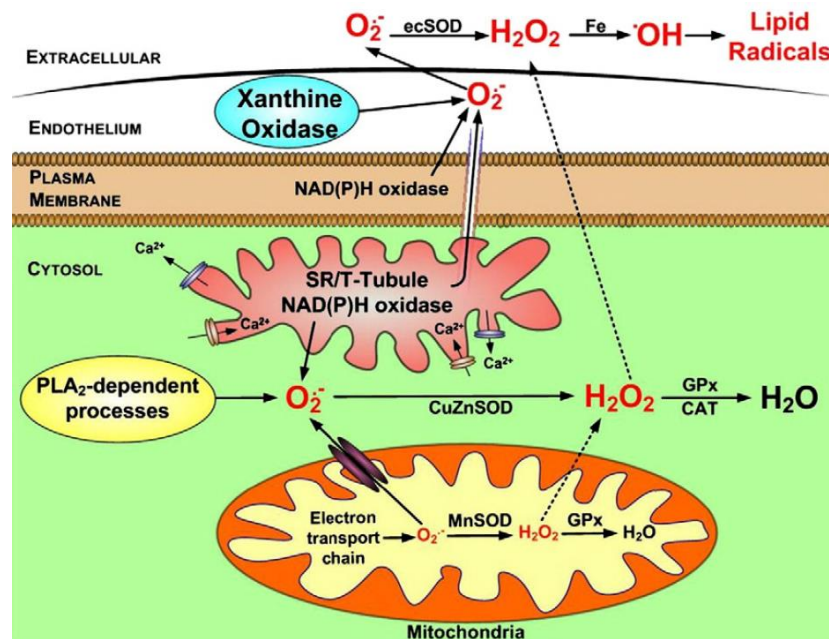


Figure 9: Récapitulatif des différents processus impliqués dans la production et la gestion des EORs au sein de la cellule (Extrait de Powers et al., 2011). La cellule pris en exemple est une cellule musculaire dans laquelle le réticulum sarcoplasmique est également impliqué dans la production d'EORs. PLA₂ : Phospholipase A2 ; CuZnSOD : Cuivre-Zinc superoxyde dismutase ; MnSOD : Manganèse superoxyde dismutase ; ecSOD : superoxyde dismutase 3 ; GPx : Glutathion peroxydase ; CAT : Catalase.

2- Altération de la balance pro/antioxydante dans la drépanocytose

La drépanocytose est également une pathologie caractérisée par un stress oxydatif chronique à la fois au niveau du GR et systémique. En effet, les patients drépanocytaires présentent des quantités en malondialdéhyde (MDA), un marqueur de la peroxydation lipidique, et en produits avancés de l'oxydation des protéines (AOPP) plus élevées comparés à des sujets sains (Antwi-Boasiako et al., 2019; Biswal et al., 2019; Das & Nair, 1980; El-Ghamrawy et al., 2014; Gizi et al., 2011; Manfredini et al., 2008; Möckesch al., 2017b; Renoux et al., 2018). En effet, dans le GR drépanocytaire, il est possible d'observer une production excessive d'EORs,

qui a comme source principale l'auto-oxydation de l'HbS, dont le taux d'auto-oxydation serait supérieur à l'HbA (Aslan et al., 2000; Conran et al., 2009). L'H₂O₂ produit par l'auto-oxydation de l'HbS peut également réagir avec le fer et produire des radicaux HO· via la réaction de Fenton (Voskou et al., 2015). Dans le cadre de la drépanocytose, la quantité en fer, libre ou lié à l'hème, est augmentée à cause de la baisse de la concentration en hémopexine (A. Smith & McCulloh, 2015) ce qui favorise fortement cette réaction et les dommages liés à l'oxydation (Voskou et al., 2015). Enfin, l'activité de la NOX est fortement augmentée dans le GR (George et al., 2013) et elle constitue une source non négligeable d'EORs au sein de celui-ci. Récemment, il a également été montré que 10% des GRs drépanocytaires contenaient des mitochondries, contrairement à ceux des sujets sains (Jagadeeswaran et al., 2017). La présence de mitochondries a également été mise en évidence dans le GR de souris transgéniques drépanocytaires et qu'un traitement limitant la maintien de ces mitochondries diminuait fortement le stress oxydatif au sein de GR (Jagadeeswaran et al., 2017). Ainsi, il semblerait que les mitochondries se maintenant dans les GRs drépanocytaires soient une source non-négligeable d'EORs cependant il est encore nécessaire de poursuivre des études sur cette question. Les EORs produites au sein du GR oxydent les lipides et les protéines de la membrane plasmique augmentant ainsi son instabilité rendant la membrane du GR plus rigide et fragile face aux contraintes mécaniques imposées par le flux sanguin (McNamee et al., 2018; Nur et al., 2011). Par conséquent, le stress oxydatif intra-érythrocytaire favorise l'hémolyse intravasculaire et donc la libération d'hémoglobine, d'hème et de fer dans le compartiment sanguin (Nur et al., 2011). De plus, les dommages membranaires provoqués par le stress oxydatif causent une diminution de la déformabilité du GR (Hierso et al., 2014). En plus des

conséquences déjà explicitées auparavant, chacune de ses molécules va participer à l'augmentation de la production en EORs dans le compartiment sanguin. En premier lieu, l'hème libéré tend à s'accumuler au niveau des cellules sanguines et endothéliales et favorise la libération de fer augmentant ainsi la production de radicaux HO· au niveau sanguin via la réaction de Fenton (Aslan et al., 2000; Kehrer, 2000). Enfin, l'auto-oxydation de l'hémoglobine libre produit des anions O₂⁻ qui réagissent avec le NO pour former du peroxydrite (ONOO⁻), une EOR avec un fort pouvoir oxydant (Chirico et al., 2016). Les cycles d'ischémie-reperfusion provoqués par les crises vaso-occlusives sont également associés à une production d'EORs accrue au niveau vasculaire mais aussi au niveau des organes impliqués (Paradis et al., 2016; Szocs, 2004). En effet, comme décrit précédemment, les CVOs provoquent une hypoxie localisée qui augmente la production d'EORs par la XO et la mitochondrie. De plus, la reperfusion est également associée à une production d'EOR qui participe aux lésions tissulaires se produisant au moment de la reperfusion des tissus (Paradis et al., 2016). La production excessive d'EORs, causée par l'hémolyse et les cycles d'ischémie-reperfusion, endommage progressivement les cellules endothéliales à la fois par la peroxydation des lipides membranaires et par l'oxydation de l'ADN (Conran & Costa, 2009; Radi et al., 1991). De plus, le stress oxydatif favorise l'activation endothéliale et l'expression de molécules d'adhésion cellulaire impliquées dans la survenue des CVOs (Nader et al., 2020). Il semblerait que la capacité antioxydante des patients drépanocytaires ne soit pas suffisante pour compenser la production excessive d'EORs. En effet, plusieurs études ont décrit une diminution du contenu en glutathion dans les GR et au niveau plasmatique (Amer et al., 2006; Gizi et al., 2011; Morris, 2008) ainsi qu'une diminution de l'activité de la SOD (Ama Moor et al., 2016; Antwi-Boasiako

et al., 2019; Biswal et al., 2019; Ren et al., 2008; Schacter et al., 1988), de la GPx (Biswal et al., 2019; Das & Nair, 1980; Natta et al., 1990; Ren et al., 2008; Renoux et al., 2018) et de la CAT (Ama Moor et al., 2016 ; Antwi-Boasiako et al., 2019 ; Biswal et al., 2019 ; Möckesch et al., 2017b). La capacité antioxydante des patients drépanocytaires serait donc diminuée, ce qui expliquerait la présence d'un stress oxydatif chronique. Néanmoins, il a également été rapportée une activité de la SOD (Ajibola et al., 2019; S. K. Das & Nair, 1980; Manfredini et al., 2008; Renoux et al., 2018), de la GPx (Gizi et al., 2011; Manfredini et al., 2008; Rusanova et al., 2010) et une capacité antioxydante plasmatique (E. L. T. Shimauti et al., 2014; Eliana Litsuko Tomimatsu Shimauti et al., 2010; Silva et al., 2011) augmentées dans le plasma et les GRs des patients drépanocytaires par rapport à des sujets sains. Cependant, malgré l'augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydantes rapportée dans ces études, la production d'EORs au niveau plasmatique et du GR n'étaient pas compensée, conduisant alors tout de même à un stress oxydatif. Les résultats parfois divergents sur le niveau de stress oxydatif dans la drépanocytose pourraient s'expliquer en partie par l'effet de différents facteurs modulateurs, génétiques ou thérapeutiques, rarement pris en compte dans les études sur cette maladie (Gueye Tall et al., 2020; Renoux et al., 2018). En effet, la présence d'une alpha-thalassémie est associée à une réduction du stress oxydatif chez des enfants drépanocytaires (Renoux et al., 2018) (Figure 10). De plus, il semblerait que l'âge de la première complication et/ou la nature des complications cliniques aient un effet sur le stress oxydatif (Gueye Tall et al., 2020) (Figure 10). En conclusion, ces résultats montrent que la drépanocytose induit un dérèglement de la balance pro/antioxydant qui joue un rôle majeur dans le développement de différentes complications associées à cette maladie.

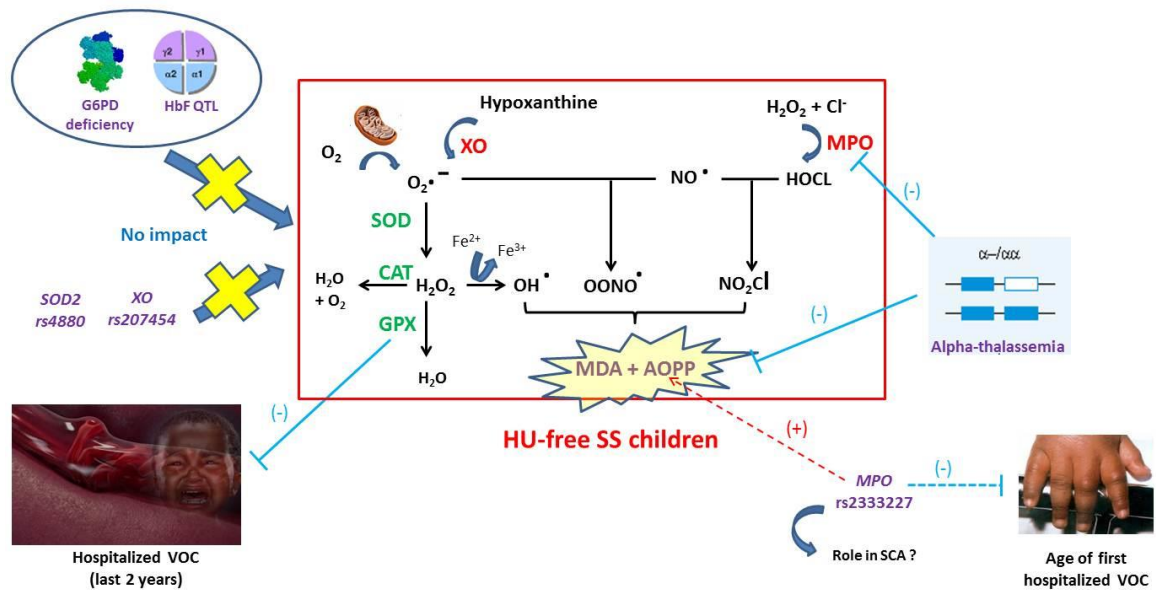


Figure 10 : Interactions entre les modulateurs génétiques et/ou cliniques avec le stress oxydatif chez des enfants drépanocytaires S/S (Extrait de Gueye Tall et al., 2020). AOPP : produits avancés de l'oxydation des protéines ; CAT : catalase ; G6PD : Glucose-6-phosphate déshydrogénase ; GPX : glutathion peroxydase ; HU : hydroxyurée ; MDA : malondialdéhyde ; MPO : myélopéroxydase ; SCA : Syndrome homozygote S/S de la drépanocytose ; SOD : superoxyde dismutase ; VOC : crises vaso-occlusives ; XO : xanthine oxydase.

IV- Thérapies actuelles

1- Hydroxyurée

Au niveau mondial, le médicament le plus utilisé dans la prise en charge clinique des patients drépanocytaires est l'hydroxyurée (HU) (McGann & Ware, 2015). Cette molécule est un inhibiteur de la ribonucléotide réductase, une enzyme impliquée dans la division cellulaire, ainsi l'HU possède une action antimitotique puissante. Par conséquent, elle limite la production de GRs au niveau de la moelle osseuse et favorise ceux qui expriment l'hémoglobine fœtale (HbF). Contrairement à l'HbS, l'HbF n'exprime pas de chaîne β mais une chaîne γ et n'a donc

pas la possibilité de former des polymères. Ainsi, le principal mécanisme d'action thérapeutique de l'HU est de limiter la polymérisation de l'HbS en augmentant la concentration en HbF (Charache, 1993; Dover & Charache, 1992). Elle possède également d'autres cibles thérapeutiques que l'HbF dans le cadre de la drépanocytose (Pule et al., 2015). En effet, l'HU est un cytotoxique qui conduit à la diminution de la quantité de globules blancs, neutrophiles et réticulocytes circulants, ce qui limiterait l'adhérence de ces cellules à l'endothélium et donc l'occurrence de CVOs (Ware, 2010). L'HU augmente également la production de NO au sein du GR ainsi que sa déformabilité tout en diminuant le stress oxydatif intra-érythrocytaire (Nader et al., 2018) ce qui permet de limiter les phénomènes d'hémolyse ainsi que l'apparition des CVOs. Récemment, Nevitt *et al* (2017) ont publié une méta-analyse regroupant les données de plusieurs études cliniques portant sur les effets thérapeutiques de l'HU chez le patient drépanocytaire. Les résultats de cette méta-analyse indiquent que l'HU aurait un effet général de diminution des douleurs associé à une amélioration de la qualité de vie. Elle permettrait également de limiter les dommages organiques notamment au niveau des reins via une réduction de l'hémolyse (Audard et al., 2017; Bartolucci et al., 2016). Cependant, il ne semblerait pas qu'elle prévienne les dommages liés à la pathologie dans d'autres organes. De plus, l'HU limite de façon importante la survenue de complications cliniques aiguës et donc le taux d'hospitalisation ainsi que la durée de ses hospitalisations (Ballas et al., 2010; Charache et al., 1995; Ferster et al., 1996; Jain et al., 2012). Au niveau hématologique, elle permet une augmentation de l'hématocrite et de la quantité d'hémoglobine notamment via une réduction de l'hémolyse (Jain et al., 2012; Wang et al., 2011). Enfin, un traitement chronique à l'HU est associée à une diminution de la mortalité des patients drépanocytaires (Steinberg et al., 2010;

Steinberg et al., 2003). Ainsi, elle présente un intérêt thérapeutique élevé associé à une toxicité et des effets secondaires réduits, ce qui explique son utilisation massive dans la prise en charge clinique des patients drépanocytaires (Jain et al., 2012; McGann & Ware, 2015). Cette amélioration des paramètres cliniques provoqués par l’HU est associée à une amélioration de la qualité de vie des patients drépanocytaires. En effet, le traitement à l’HU permet une diminution générale de la douleur chronique chez les patients associée à une diminution des scores de dépression, de fatigue ou encore d’isolation sociale (Badawy et al., 2017; Ballas et al., 2006; Smaldone et al., 2018). De plus, les patients suivant un traitement à l’HU sont également caractérisés par une augmentation de la capacité fonctionnelle et de leur aptitude physique (Garadah et al., 2019; Hackney et al., 1997; Wali & Moheeb, 2011). Chez les patients S/S, la prescription d’HU est préconisée pour des patients ayant plus de 3 CVOs ou un syndrome thoracique aigu par an et/ou lorsque son taux d’hémoglobine devient trop faible (Yawn et al., 2014). L’efficacité de l’HU chez les patients S/C n’est pas encore totalement démontrée cependant elle semble avoir des effets bénéfiques chez les patients caractérisés par les tableaux cliniques les plus graves. En effet, bien que les bénéfices de l’HU sur les paramètres hématologiques soient limitées chez les patients S/C, le nombre d’hospitalisations liées à des complications cliniques graves diminuent fortement en présence d’HU (Luchtman-Jones et al., 2016; Summarell & Sheehan, 2016; Yates et al., 2013). Cependant, ces résultats ont été obtenus sur des cohortes de patients de taille plutôt petite et un essai clinique à grande échelle est nécessaire pour confirmer les effets bénéfiques de l’HU chez les patients S/C.

2- Transfusion sanguine

La transfusion sanguine est un traitement utilisé couramment dans la prise en charge thérapeutique du patient drépanocytaire. Le but de la transfusion est d'améliorer la capacité de transport de l'O₂ en limitant l'anémie et/ou de limiter les complications liées à une concentration importante en HbS (Biller et al., 2018; Chou & Fasano, 2016). Elle peut être une simple transfusion sanguine ou un échange transfusionnel, ou érythraphérèse, qui consiste en l'échange des GRs du receveur par ceux du donneur. Ainsi, le choix entre les deux méthodes s'effectue en fonction du but thérapeutique recherché. De manière traditionnelle, la transfusion simple était utilisée pour limiter l'anémie alors que le but de l'échange transfusionnel était de limiter la concentration en HbS. Cependant, l'échange transfusionnel est de plus en plus préféré à la transfusion notamment car il permet d'éviter une accumulation en fer et une hyperviscosité sanguine provoquées par une transfusion simple (Biller et al., 2018; Chou & Fasano, 2016). De plus, il a également été montré que les échanges érythrocytaires automatiques permettaient de mieux contrôler la viscosité sanguine que les échanges érythrocytaires manuels (Ait Abdallah et al., 2020). L'utilisation de ces méthodes va permettre à la fois de traiter des complications aiguës mais également de les prévenir lorsqu'elle est prescrite de façon chronique. De façon aiguë, l'érythraphérèse est très utilisée contre les AVCs, les syndromes thoraciques aigus associés à de l'hypoxie ou encore des défaillances multi-organiques (Biller et al., 2018). De plus de façon chronique, elle est utilisée pour limiter la fréquence des CVOs et en prévention des AVCs (Davis et al., 2017; Fort, 2019). La répétition de transfusions peut entraîner l'apparition d'une allo-immunisation chez le patient drépanocytaire, *i.e.* le développement d'une immunité spécifique dirigée contre les GRs sains apportés par la transfusion

(Yazdanbakhsh et al., 2012). La principale cause du développement de ce type de phénomène est la différence antigénique entre le donneur et le receveur et il serait présent chez 20 à 50 % des patients drépanocytaires transfusés dans les pays occidentaux (Rosse et al., 1990; Vichinsky, 2001). Ce chiffre important peut être expliqué par le fait, que dans ces régions, les donneurs sont principalement caucasiens possédant une différence antigénique importante avec les épitopes présents sur les GRs des populations africaines. La conséquence la plus grave de l'allo-immunisation est la survenue de crises hémolytiques post-transfusionnelles qui se caractérise par une destruction importante des GRs drépanocytaires et du donneur. Ainsi le taux d'hémoglobine va très fortement diminué menant à l'hospitalisation du patient afin de contrer l'anémie très importante et potentiellement létale (Yazdanbakhsh et al., 2012). Les protocoles transfusionnels sont couramment utilisés chez les patients S/S alors que les protocoles de saignées sont plus fréquemment utilisés chez les patients S/C. Chez ces derniers, ce type de protocole permet de diminuer la taux d'hémoglobine et la viscosité sanguine, deux paramètres fortement impliqués dans la physiopathologie associée à ce génotype (Lionnet et al., 2016).

3- Transplantation osseuse et thérapie génique

L'HU et les transfusions sanguines ont un effet thérapeutique important en limitant les complications cliniques associées à la pathologie mais ne constituent pas une solution curative. A l'heure actuelle, la seule solution curative existante pour le patient drépanocytaire est la transplantation de moelle osseuse dont le but est d'apporter des cellules souches hématopoïétiques saines qui produisent des GRs n'exprimant pas l'HbS (Kassim & Sharma,

2017; Kato et al., 2018). Cependant, la complexité de l'intervention clinique associée à la limitation du nombre de donneurs compatibles font que cette solution est proposée seulement à une faible proportion de patients drépanocytaires (Rees et al., 2010). Ainsi, avec les récentes avancées technologiques dans le domaine de la biologie moléculaire, la thérapie génique constitue une solution curative séduisante pour les patients drépanocytaires. De la même façon que l'objectif de la transplantation osseuse est de remplacer les cellules souches hématopoïétiques pathologiques par leurs équivalents sains provenant du donneur, l'objectif de la thérapie génique est de produire des cellules souches hématopoïétiques saines et autologues. Comparée à la transplantation osseuse, cette approche permettrait à la fois de pallier le manque de donneur compatible mais également d'éviter les réactions de rejet chez le patient greffé. Les premières méthodes envisagées ont utilisé une version du gène de la β -globine dont la thréonine 87 était modifiée en glutamine et qui va être inséré dans le génome à l'aide d'un lentivirus (Demirci et al., 2018). La particularité de ce gène est de produire une chaîne β -globine qui ne possède pas la capacité de se lier avec les autres chaînes β -globines et donc d'entraîner la polymérisation des molécules d'hémoglobines. Cette approche a notamment été utilisée dans une étude clinique menée par Ribeil *et al* (2017) au cours de laquelle un jeune patient drépanocytaire a été greffé avec des cellules souches hématopoïétiques modifiées génétiquement. Plus précisément, des cellules souches hématopoïétiques ont été prélevées au niveau de sa moelle osseuse puis le gène modifié codant pour la β -globine a été inséré à l'intérieur de leur génome à l'aide d'un lentivirus. Enfin, après avoir subi une myélosuppression, ces cellules souches ont été infusées au niveau de la moelle osseuse pour qu'elles puissent se différencier en globules rouges. Quinze mois après la transplantation, ce

patient ne présentait aucune complication clinique, une numération formule sanguine normale et présentait des caractéristiques cliniques similaires à celle d'un sujet A/S. De plus, le développement récent de la technique CRISPR/Cas9, qui permet une édition très précise de l'ADN, donne la possibilité de modifier directement la mutation pathologique de l'HbS ou encore d'éviter la transition entre l'HbF et l'HbS (Demirci et al., 2019). Cependant, bien que prometteuse, cette approche très récente est encore menée à un stade *in vitro* et il reste nécessaire d'imaginer de nouvelles approches thérapeutiques pour la prise en charge des patients drépanocytaires.

4- Thérapies émergentes

De nombreuses études cliniques sont actuellement en cours, de la phase I à la phase III, afin d'étudier les effets thérapeutiques de plusieurs molécules chez le patient drépanocytaire et parmi ces molécules, trois sont particulièrement prometteuses (Carden & Little, 2019). Une première molécule est la L-glutamine, qui est impliquée dans la régulation de l'état d'oxydo-réduction de la cellule, notamment en étant un précurseur du NAD^+ . Ainsi, une supplémentation en L-glutamine pourrait permettre de limiter le stress oxydatif intra-érythrocytaire, fortement impliqué dans la physiopathologie drépanocytaire. *In vitro*, il a été démontré que les GRs de patients traités par de la L-glutamine adhéraient beaucoup moins à l'endothélium que les GRs de patients non-traités, mettant en évidence un mécanisme thérapeutique d'intérêt (Niihara et al., 2005). Une récente étude clinique de phase III menée par la même équipe s'est intéressée aux effets d'une supplémentation en L-glutamine durant 11 mois chez des patients

drépanocytaires S/S et S/ β^0 (Niihara et al., 2018). Ils ont montré que les patients supplémentés présentaient une réduction significative du nombre de complications cliniques ainsi que de leur fréquence d'hospitalisation. De plus, aucun effet secondaire grave n'a été observé durant l'essai chez les patients traités montrant ainsi l'intérêt thérapeutique important de cette molécule, ce qui a amené l'agence américaine FDA à autoriser sa mise sur le marché en 2017. La seconde molécule d'intérêt est le Voxelotor, ou GBT440, qui est une petite molécule se fixant sur l'hémoglobine et qui augmente son affinité pour l'O₂ (Carden & Little, 2019). Ainsi, dans le cadre de la drépanocytose, elle permettrait de favoriser la forme oxygénée de l'hémoglobine limitant ainsi la falciformation des GRs et les conséquences physiopathologiques qui en découlent. Deux essais cliniques de phase I/II ont montré que les patients traités avec cette molécule présentaient un nombre de GRs falciformés et des marqueurs de l'hémolyse réduits (Howard et al., 2019; Lehrer-Graiwer et al., 2015). L'essai HOPE, un essai clinique de phase III pour cette molécule, a également montré que ce médicament réduisait l'hémolyse chronique et permettait d'augmenter le taux d'hémoglobine sans effets secondaires graves (Vichinsky et al., 2018). Enfin, les dernières molécules d'intérêt sont des anticorps spécifiques de la P-sélectine, une molécule d'adhésion vasculaire impliquée dans la survenue des CVOs (Matsui et al., 2001; Matsui et al., 2002). Une première étude s'est intéressée à un traitement au crizanlizumab, un anticorps monoclonal anti-P-sélectine, pendant 12 mois chez des patients drépanocytaires, avec comme critère de jugement principal le nombre des CVOs douloureuses (Ataga et al., 2017). Ainsi, dans le groupe traité, les auteurs observent une réduction significative du nombre de ces épisodes chez les patients dont l'occurrence était beaucoup plus tard par rapport au groupe placebo. Une seconde étude s'est intéressée à l'action d'un inhibiteur

de pan-sélectine, le GMI-1070, sur la résolution des CVOs, administré de façon aigu chez les patients drépanocytaires S/S et S/ β° (Telen et al., 2015). Les patients traités présentaient une résolution de leurs CVOs plus rapide que le groupe placebo, bien que la différence soit non significative, qui se traduisait généralement par une diminution des douleurs. Ces deux molécules semblent avoir un intérêt thérapeutique important pour la prise en charge et la prévention des crises douloureuses chez les patients drépanocytaires.

Chapitre 2 - EXERCICE ET DREPANOCYTOSE

I- Activité physique et drépanocytose

1- Evaluation de la capacité à l'exercice dans la drépanocytose

Chez le patient drépanocytaire, la capacité à l'exercice et ses déterminants sont majoritairement mesurés à l'aide de deux tests au niveau clinique : le test de marche de 6 minutes (T6M) et le test d'effort cardio-pulmonaire (TECP). Le T6M est un test au cours duquel il est demandé aux sujets d'effectuer la plus grande distance possible en 6 minutes, *i.e.* de marcher à la vitesse qu'ils considèrent comme leur vitesse maximale (Enright, 2003). Les facteurs limitant la distance parcourue sont liés à des modifications pathologiques au niveau pulmonaire et/ou cardio-vasculaire, ainsi ce test est particulièrement pertinent dans la mesure de la capacité fonctionnelle des patients atteints par ce type de pathologie (Enright, 2003). On considère alors que les sujets ont une capacité fonctionnelle réduite lorsque la distance parcourue au cours du T6M est inférieure à la distance prédite (Table 1) (Connes et al., 2011). Plusieurs études ont montré que la distance effectuée au cours du test était réduite chez les patients S/S (Alameri et al., 2008; Anthi et al., 2007; Campbell et al., 2009; Garadah et al., 2019; Gordeuk et al., 2011; Hostyn et al., 2013; Machado et al., 2005; Waltz et al., 2013a; Waltz et al., 2013b) et S/C (Hostyn et al., 2013; Waltz et al., 2013b) Ces résultats indiquent une capacité fonctionnelle réduite chez le patient drépanocytaire qui serait liée principalement aux anomalies hématologiques et hémorhéologiques (Waltz et al., 2013a), mais aussi aux altérations

cardio-vasculaires (Alameri et al., 2008; Anthi et al., 2007; Gordeuk et al., 2011; Machado et al., 2005). Le T6M procure des informations importantes sur la capacité fonctionnelle d'un individu au cours des activités quotidiennes de la vie mais pas pour des intensités d'exercice plus élevées. De plus, il ne permet pas d'explorer les facteurs limitants de la capacité à l'exercice des patients, ainsi dans un contexte clinique, le TECP est préférentiellement utilisé afin de caractériser ces facteurs limitants. Ce test consiste en un exercice aérobie d'intensité croissante qui va fortement impliquer les systèmes ventilatoire et cardio-vasculaire, permettant de mettre en évidence une dysfonction de l'un de ses systèmes chez un individu lors d'un exercice. Au cours de ce test, les sujets vont être soumis à un exercice dont l'intensité va augmenter à intervalles de temps réguliers jusqu'à épuisement, *i.e.* le moment auquel le sujet n'est plus capable de maintenir l'intensité d'exercice (Mezzani, 2017). Les individus sont équipés d'un analyseur d'échanges gazeux permettant de mesurer la consommation d'O₂ et la production de CO₂. Ainsi plusieurs paramètres ventilatoires métaboliques à l'exercice peuvent être mesurés afin de caractériser la capacité à l'exercice des patients (Mezzani, 2017). Les principaux paramètres mesurés sont la consommation maximale en O₂ (VO₂max) ou la consommation pic en O₂ (VO₂pic). La première correspond à la valeur plateau atteinte par la consommation en O₂ au cours du TECP et elle est donc associée à une intensité d'exercice maximale. Cependant, dans le cas des populations pathologiques, il est possible que les limitations cardio-respiratoires provoquent un arrêt spontané de l'exercice par l'individu, ou un arrêt par le médecin, empêchant ainsi que ce plateau soit atteint. Ainsi dans cette situation, c'est la VO₂pic qui va être mesurée, *i.e.* la consommation en O₂ atteinte au moment de l'arrêt de l'exercice. D'un point de vue clinique, la VO₂pic permet de quantifier la capacité à l'exercice

des patients et sa réduction permet également de mettre en évidence une altération de l'apport et/ou de l'utilisation de l'O₂ par l'organisme au cours de l'exercice. Un second paramètre d'intérêt est le quotient respiratoire (QR) qui désigne le rapport entre le débit de CO₂ expiré (VCO₂) sur la consommation en O₂ (VO₂). Le QR peut être utilisé pour estimer l'intensité de l'exercice effectué mais il est également utilisé pour déterminer le premier seuil ventilatoire (SV1). En effet, le SV1 correspond au moment où la pente de la courbe entre VCO₂ et VO₂ devient supérieure à 1 (Figure 11) mais il est également possible de le déterminer en étudiant le rapport entre le débit d'air expiré (V_E) sur la VO₂. Le SV1 se définit alors comme le moment où ce rapport augmente rapidement traduisant une utilisation plus importante du métabolisme anaérobie (Mezzani, 2017). La puissance atteinte au SV1 est complémentaire à la VO₂pic dans la mise en évidence d'une réduction de la capacité à l'exercice des sujets.

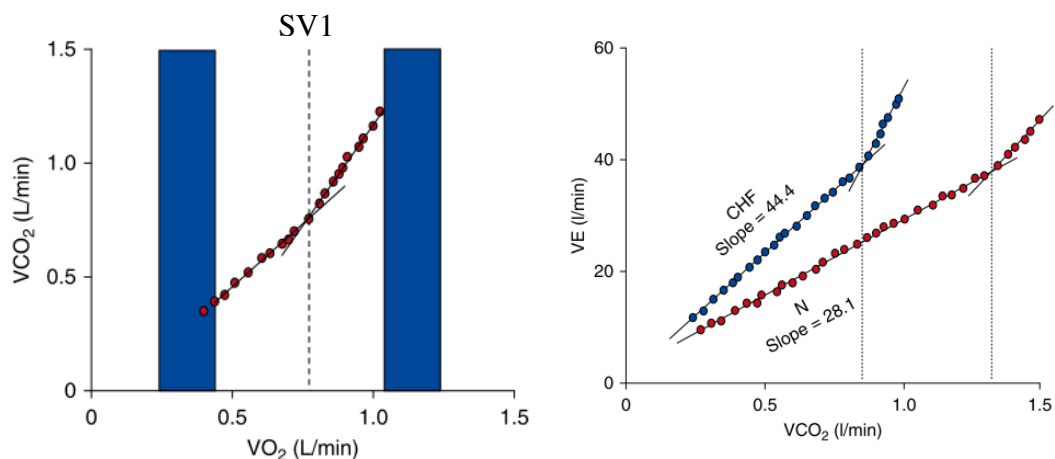


Figure 11 : Relation VCO₂/VO₂ au cours d'un TECP (gauche) et relation V_E/VCO₂ pour un sujet sain (N) et un patient atteint d'insuffisance cardiaque (CHF) (droite) (Adapté de Mezzani, 2017). La pente très importante chez le patient CHF indique une efficacité ventilatoire très altérée comparée au sujet sain. SV1 : Premier seuil ventilatoire.

Enfin un dernier paramètre est le rapport entre V_E et VCO_2 qui représente l'efficacité ventilatoire, *i.e.* la quantité d'air qui doit être expirée pour expulser 1L de CO_2 . Ainsi, une augmentation de la pente du rapport V_E/VCO_2 pour une puissance donnée indique une hyperventilation à l'exercice et donc une efficacité respiratoire altérée. De plus, les sujets sont équipés d'électrodes électrocardiographiques afin de mesurer les modifications de fréquence cardiaque au cours du test. Ainsi, le TECP est un outil puissant pour déterminer la capacité à l'exercice des patients ainsi que les facteurs déterminants cette capacité à l'exercice en les comparant soit à des valeurs de références ou à des valeurs prédites (Table 1). Au cours du TECP, les patients drépanocytaires S/S et S/C sont caractérisés par une diminution de leur VO_{2pic} et de la puissance produite qui est associée à une augmentation de la fréquence cardiaque par rapport à des sujets sains (Alsaied et al., 2020; Callahan et al., 2002; Charlot et al., 2015; Chaudry et al., 2013; Das et al., 2008; Hedreville et al., 2014; Oyono-Enguélé et al., 2000; Pianosi et al., 1993; Powell et al., 2019). Ainsi, les patients drépanocytaires sont caractérisés par une capacité fonctionnelle et à l'exercice très réduite par rapport à la population générale, impactant de façon importante la vie de ces patients (Merlet et al., 2018).

Classification	Critères	Valeurs anormales
Capacité à l'exercice limitée	VO ₂ pic réduite	< 80% de la VO ₂ théorique
	Seuil anaérobie abaissé	< à la valeur théorique
	Rapport VO ₂ /Fc réduit	< 80% de la valeur théorique
	Rapport VO ₂ /Puissance	< 9,5 mL/min/W
	Distance au T6M réduite	< à la distance théorique
Altération des échanges gazeux	Fonction ventilatoire altérée mis en évidence au repos et à l'exercice	
	Augmentation de la P(A-a)O ₂	> 30 mmHg
	Augmentation du rapport V _E /VCO ₂	> 34 au SV1
	Rapport V _{Courant} /V _{mort}	V _{Courant} /V _{mort} pic à l'exercice < V _{Courant} /V _{mort} au repos
	Présence d'une dyspnée	
Limitation ventilatoire	Réserve ventilatoire réduite	< 15 L
Limitations périphériques vasculaires	Augmentation de la Fc de réserve	> 30 battements/min
Altérations cardiaques (ischémie)	Dépression du segment ST	
	Elévation du produit PaS x Fc	

Tableau 1 : Références pour l'interprétation des résultats obtenus au cours d'un test de marche de 6 minutes ou d'un test d'effort cardiopulmonaire. Fc : fréquence cardiaque ; P(A-a)O₂ : différence de tension en dioxygène alvéolo-artérielle ; PaS : pression artérielle systolique ; SV1 : Premier seuil ventilatoire ; VO₂ : consommation en O₂. Traduit de Connes et al., 2011.

2- L'exercice aigu chez le patient drépanocytaire

a- *Généralités : les risques à l'exercice pour le patient drépanocytaire*

La notion d'exercice aigu se définit comme le fait de réaliser de façon non régulière un effort d'intensité et de durée variable. Elle se pose en miroir de la notion d'exercice chronique qui constitue une répétition d'exercices résultant en des adaptations physiologiques spécifiques caractérisant l'entraînement. Une des conséquences de l'exercice aigu est l'augmentation de la production de force et/ou de puissance mécanique de la part des muscles afin d'assurer cet exercice. Ainsi, la consommation énergétique musculaire augmente et elle va être maintenue par une hausse de l'apport en O₂ et en nutriments au muscle squelettique par les systèmes cardio-vasculaire et ventilatoire. Plus précisément, il est possible d'observer une élévation du débit ventilatoire et du débit cardiaque afin d'améliorer le transit des molécules nécessaires à l'effort. Le débit ventilatoire augmenté permet également d'améliorer les échanges entre les poumons et le sang afin d'oxygéner au maximum ce dernier et d'évacuer les déchets, tels que le CO₂. Ces molécules vont pouvoir transiter rapidement à l'intérieur de l'organisme grâce à deux facteurs : une augmentation du débit cardiaque et du flux sanguin. Le débit cardiaque est le produit de la fréquence cardiaque et du volume d'éjection systolique et son élévation est expliquée par l'augmentation de ces deux paramètres au cours de l'exercice. Le flux sanguin va être régulé de façon locale grâce à l'interaction entre l'activité du système nerveux autonome et la libération de molécules vasoactives notamment par l'endothélium. Cela permet de modifier le diamètre des vaisseaux pour augmenter la perfusion sanguine dans les organes les plus impliqués et le diminuer dans les organes les moins impliqués dans l'exercice. Ainsi, ces

modifications permettent au muscle squelettique de disposer de toutes les ressources nécessaires pour produire l'énergie via le métabolisme aérobie. Plus précisément, le métabolisme aérobie produit de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) à partir de glucose ou d'acides gras grâce à plusieurs processus ayant lieu dans le cytoplasme et au niveau de la mitochondrie, consommant de l'O₂ et produisant du CO₂. A des intensités d'exercice élevées, la quantité d'ATP que le muscle doit resynthétiser pour maintenir l'exercice devient trop importante en comparaison du débit énergétique maximal du métabolisme aérobie. Ainsi afin de continuer à produire suffisamment d'ATP pour maintenir l'effort, le muscle squelettique va alors utiliser les voies de production d'ATP anaérobies alactique, qui utilise la phosphocréatine (PCr) et lactique, qui utilise le glucose. Le métabolisme anaérobie a la capacité de produire de l'ATP rapidement sans utiliser d'O₂ et est associé à une production et une accumulation de métabolites importante au niveau musculaire, puis au niveau sanguin. Enfin, l'exercice aigu est associé à de nombreuses modifications transitoires au niveau sanguin, dont une acidose importante, qui reviennent progressivement à un état de base à la suite de l'exercice. Chez le patient drépanocytaire, certains de ces événements sont capables de favoriser la polymérisation de l'HbS et donc la falciformation du globule rouge. En effet, l'élévation de la demande en oxygène, de la température corporelle ainsi que la déshydratation et l'acidose métabolique sont des facteurs qui favorisent la polymérisation de l'HbS (Bookchin et al., 1976; Chatel et al., 2018; MacDonald, 1977). Ces événements sont généralement associés à un exercice physique de haute intensité et par conséquent, celui-ci augmente la probabilité de falciformation et donc la survenue de CVOs (Connes et al., 2011; Martin et al., 2015). Ainsi, cela a amené les professionnels de santé à fortement déconseiller l'exercice physique aux

patients drépanocytaires, favorisant un comportement hypersédentaire impliqué dans la réduction de la qualité de vie (Connes et al., 2011; Martin et al., 2015; Merlet et al., 2018). A partir des années 2000, plusieurs études ont montré qu'un exercice d'intensité modéré ne présentait pas de risques ou des risques faibles pour la survenue de crises vaso-occlusives (Balayssac-Siransy et al., 2011; Barbeau et al., 2001; Callahan et al., 2002; Das et al., 2008; Faes et al., 2014; Hedreville et al., 2014; van Beers et al., 2014; Wali & Moheeb, 2011). Par conséquent, cela a entraîné un changement de paradigme qui encourage les patients à pratiquer une activité physique modérée dans la vie quotidienne. Bien que ce type d'activité physique présente des risques faibles pour les patients, il a été décrit lors d'un exercice de marche qu'un tiers des patients S/S présente des hypoxémies induites par l'exercice qui pourraient favoriser la polymérisation de l'HbS et la falciformation érythrocytaire (Waltz et al., 2013b). De plus, les conditions environnementales, *e.g.* le froid, la chaleur ou la déshydratation, peuvent également favoriser la survenue de CVOs au cours d'un exercice. Il semble donc que l'exercice d'intensité modérée nécessite tout de même une surveillance de la part des patients, de leur entourage et des professionnels de santé afin d'éviter d'éventuelles CVOs.

b- Réponses cardio-ventilatoires

Les patients drépanocytaires sont caractérisés par une dysfonction cardiaque à fraction d'éjection préservée (Gladwin, 2017; Niss et al., 2016) qui se caractérise par une hypertrophie des ventricules droit et gauche, limitant en conséquence le remplissage ventriculaire, qui est

couplée à une dysfonction atriale gauche (Pianosì et al., 1991; Wood et al., 2020). Enfin, il est également possible d'observer un débit cardiaque au repos plus élevé chez les patients drépanocytaires (Chaudry et al., 2013; Covitz et al., 1983; Pianosi et al., 1991) afin de compenser les effets de l'anémie et de maintenir une oxygénation périphérique normale (Detterich et al., 2019). Ces modifications au repos sont importantes et pourraient également être impliquées dans la réduction de la capacité à l'exercice des patients drépanocytaires. En effet, plusieurs études ont montré des réponses cardiaques altérées chez les patients drépanocytaires au cours d'un TECP qui seraient impliquées dans leur performance réduite. Une première étude menée par Covitz *et al* (1983) a montré que le débit cardiaque, le volume d'éjection systolique maximal ainsi que le volume diastolique était réduit chez les patients drépanocytaires par rapport aux sujets sains. De plus, les auteurs ont observé une corrélation positive entre le pourcentage d'augmentation du débit cardiaque et la puissance mécanique lors du test, indiquant une relation entre dysfonction cardiaque et capacité à l'exercice. Plusieurs études ont également rapporté que les patients drépanocytaires présentaient un rapport VO_2 /fréquence cardiaque réduit par rapport à des sujets contrôles lors d'exercices sous maximaux (Das et al., 2008; Powell et al., 2019). De plus, la pente du rapport entre V_E/VCO_2 est significativement plus importante chez les patients drépanocytaires à mesure que l'intensité de l'effort augmente (Powell et al., 2019). Cependant, bien que ces études rapportent des altérations de la fonction cardio-vasculaire à l'exercice, elles n'ont pas discriminé lesquelles étaient limitantes au cours d'un effort physique. Ainsi dans cette optique, deux études se sont intéressées aux causes d'arrêt de l'exercice lors d'un TECP chez des patientes drépanocytaires S/S uniquement (Callahan et al., 2002) et un ensemble de patients drépanocytaires S/S, S/C et

S/ β° (van Beers et al., 2014). Les causes principales d'arrêt de l'exercice dans ces deux études étaient un inconfort au niveau des jambes ou une dyspnée importante. Cependant, les limitations de la capacité à l'exercice étaient différentes entre les patients des deux études : Callahan *et al* (2002) ont relevé que la majorité des patients avaient une limitation de leur capacité à l'exercice causée par une dysfonction située au niveau de la circulation pulmonaire alors que van Beers *et al* (2014) rapportent que la principale limitation provenait de l'anémie suivie d'une dysfonction musculaire.

Ainsi, bien que ces limitations entre les populations soient différentes, elles suggèrent que la principale limitation au cours d'un exercice aérobic chez les patients drépanocytaires serait une altération de la capacité à assurer un apport en oxygène adéquat au muscle squelettique. En effet, plusieurs études ont montré une corrélation négative entre l'anémie et la capacité à l'exercice : les patients les moins anémiés ayant la capacité à l'exercice la plus haute (Alsaied et al., 2020; Charlot et al., 2015; Pianosi et al., 1991). La présence d'une HTAP pourrait également être limitante car elle est généralement associée à une diminution des échanges gazeux avec le sang (Connes et al., 2011) ainsi qu'à une dysfonction cardiaque diastolique qui limite le remplissage ventriculaire (Wood et al., 2020). De plus, elle est associée à une dysfonction atriale gauche qui est fortement liée à la diminution de la capacité à l'exercice chez les patients drépanocytaires (Alsaied et al., 2020). En effet, les patients possédant une dysfonction atriale marquée présenteraient les capacités à l'exercice les plus réduites, relation renforcée par la présence d'une hypertension artérielle pulmonaire. Enfin, au niveau périphérique, la vasomotricité des patients drépanocytaires est altérée au repos entraînant un

découplage entre la perfusion et la demande en O₂ (Detterich et al., 2019; Möckesch al., 2017a). Bien que cela n'ait pas été mesuré directement à l'exercice, il est possible de supposer que ces altérations pourraient se maintenir au cours de l'exercice ne permettant pas une oxygénation musculaire adaptée. Ainsi, ces résultats renforcent l'hypothèse d'une capacité d'oxygénation réduite ce qui pourrait expliquer les faibles puissances atteintes à SV1 (Charlot et al., 2015; Gellen et al., 2018; Hedreville et al., 2014), suggérant une sollicitation très précoce du métabolisme anaérobie lors d'efforts sous-maximaux. Ces altérations sont également impliquées dans la réduction de la capacité fonctionnelle des patients ce qui limiteraient fortement les activités de la vie quotidienne. En effet, plusieurs études ont montré que la distance au T6M était fortement liée à l'anémie et à la déformabilité du globule rouge (Waltz et al., 2013a), à la ventilation pulmonaire (Ohara et al., 2014), au débit cardiaque (Barst et al., 2010) et enfin à la présence d'une HTAP (Gordeuk et al., 2011; Machado et al., 2005; Minniti et al., 2009).

Les études présentées précédemment ont été effectuées dans une population de patients drépanocytaires S/S exclusivement ou en intégrant les patients S/C sans les différencier des patients S/S. Ainsi, il est difficile de décrire une éventuelle réponse particulière des patients S/C au TECP. Une étude s'est intéressée à la réponse spécifique des patients S/C à un exercice aérobic sous maximal et l'a comparé à des sujets sains (Oyono-Enguéllé et al., 2000). Au cours de cette étude, les sujets ont effectué un exercice aérobic sous maximal au cours duquel les auteurs ont mesuré les modifications de fréquence cardiaque, de la ventilation pulmonaire et la modification du pH et de la lactatémie. Bien que la pression artérielle en O₂ soit inférieure au

repos chez les patients S/C, les variations et les pressions obtenues au cours de l'exercice n'étaient pas différentes entre les groupes. De la même façon, la fréquence cardiaque au repos était significativement plus élevée chez les S/C mais aucune différence n'était observable au cours de l'exercice. Les paramètres ventilatoires étaient quant à eux différents entre les groupes avec une VO_2 , un V_E et un VCO_2 réduits chez les patients S/C par rapport aux sujets sains. De plus, la pente du rapport V_E/VCO_2 était significativement plus importante pour les S/C. Enfin, la lactatémie n'était pas différente entre les groupes. En conclusion, ces résultats indiquent que la réponse à ce type d'exercice est altérée chez les patients S/C cependant ces altérations semblent moins importantes que celles observées chez les patients S/S. De plus, ces résultats semblent indiquer que les mécanismes pouvant expliquer ces limitations seraient différents entre les deux génotypes mais plus d'études s'intéressant spécifiquement aux patients S/C sont nécessaires pour répondre à ces questions.

c- Réponses hémorhéologiques, inflammatoires et du stress oxydatif

Au-delà des modifications observées au niveau des systèmes cardiovasculaire, pulmonaire et musculaire, l'exercice aigu de haute intensité entraîne des modifications importantes au niveau sanguin, notamment sur le stress oxydatif, l'inflammation et la rhéologie sanguine. En effet, il est associé à une activation endothéliale qui a pour conséquence une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion cellulaires (Bartzeliotou et al., 2007) ce qui pourrait augmenter la probabilité de survenue d'une CVO à l'exercice. De plus,

l'exercice entraîne une augmentation de la viscosité sanguine (Brun et al., 1998), de la capacité d'agrégation et la diminution de la déformabilité du globule rouge (Ernst et al., 1991). Dans le cadre de la drépanocytose, il a été montré qu'une augmentation de la viscosité sanguine était associée à un nombre augmenté de CVOs (Charlot et al., 2016; Nebor et al., 2011). De plus, les patients drépanocytaires sont caractérisés par un seuil de désagrégation élevé (Tripette et al., 2009) et d'une diminution de la déformabilité des GRs (Nader et al., 2018; Renoux et al., 2016). Ces trois modifications ont pour principale conséquence une perturbation du flux sanguin qui favorise la survenue de CVOs (Connes et al., 2016; Nader et al., 2019) ainsi elles constituent des facteurs de risque importants à l'exercice. Ainsi, afin d'étudier les effets d'un exercice sur les modifications hémorhéologiques dans la drépanocytose, Balayssac-Siransy *et al* (2011) ont soumis des patients drépanocytaires S/S et des sujets sains à un exercice sous-maximal sur ergocycle d'une durée de 20 min. Bien que les patients drépanocytaires aient effectué l'exercice à une intensité relative plus élevée que les sujets sains (l'intensité absolue étant identique), la viscosité sanguine a augmenté avec la même amplitude et n'était pas différente entre les deux groupes. De plus, Waltz *et al* (Waltz et al., 2012a) ont montré qu'un exercice incrémental jusqu'au SV1 n'augmentait pas la viscosité et ne modifiait pas la déformabilité des GRs chez des patients drépanocytaires S/S. De façon intéressante, le seuil de désagrégation érythrocytaire était significativement réduit 36 et 60h après cet exercice aigu sous-maximal, indiquant un potentiel effet bénéfique de l'exercice au niveau hémorhéologique. Ces adaptations de l'agrégation érythrocytaire sont d'autant plus intéressantes que des associations ont été rapportées entre le niveau du seuil de désagrégation érythrocytaire et le risque de syndrome thoracique aigu (Lamarre et al., 2012). Ensuite en 2014, Faes *et al* (2014) se sont intéressés aux

effets du même exercice sous maximal sur le stress oxydatif et sur la production de molécules d'adhésion cellulaire chez des patients drépanocytaires S/S. Au repos, les patients drépanocytaires ne présentaient pas de différences avec les sujets contrôles exceptées une tendance à une oxydation des protéines accrues ainsi qu'une activité de la GPx augmentée. L'exercice sous maximal a seulement entraîné une augmentation modérée de la peroxydation lipidique qui n'était pas différente entre les sujets sains et drépanocytaires. Au niveau des molécules d'adhésions cellulaires, plusieurs d'entre elles étaient augmentées chez les patients drépanocytaires par rapport aux sujets sains cependant seule sVCAM-1 a augmenté chez les patients drépanocytaires au cours de l'exercice. Une seconde étude s'est intéressée à la réponse inflammatoire aigue chez des patients drépanocytaires SS et S/ β^0 au cours d'un test d'exercice progressif et maximal sur ergocycle (Liem et al., 2015). A la suite de cet exercice, aucune complication n'a été observée chez les sujets drépanocytaires malgré l'intensité de l'exercice. Contrairement à l'étude de Faes *et al*, sVCAM-1 n'a pas augmenté au cours de l'exercice dans les deux groupes mais était supérieure au repos chez les sujets drépanocytaires par rapport aux sujets sains. De la même façon, les autres marqueurs n'étaient pas augmentés par l'exercice dans les deux groupes, même si le nombre de plaquettes, de D-dimères et la concentration en protéine C réactive (CRP) étaient supérieures chez les patients drépanocytaires. La différence de résultats entre les deux études peut s'expliquer par les populations étudiées (adolescents *vs* adultes) et/ou les protocoles d'exercices utilisés (sous maximal *vs* maximal) cependant elles montrent toutes les deux que l'exercice aigu n'induit pas de réaction inflammatoire exacerbée. Ces études n'ayant pas rapportées de conséquences cliniques graves, notamment des CVOs,

elles confirment que l'exercice sous maximal d'une durée maximale de 20 minutes ne présente pas de risques pour les patients drépanocytaires S/S.

3- L'exercice chronique

Nous avons vu dans les paragraphes précédents que l'exercice aérobie modérée ne présentait pas de danger pour les patients drépanocytaires malgré des dysfonctions marquées des systèmes ventilatoire et cardiovasculaire. Il est aujourd'hui bien démontré que l'exercice aérobie modéré pratiqué de manière chronique entraîne des bénéfices importants sur la fonction de ces deux systèmes chez des sujets sains et pathologiques. Ainsi, cela a conduit à la réalisation de plusieurs études sur les effets de l'exercice chronique et régulier chez les patients drépanocytaires.

a- *Généralités*

L'exercice chronique correspond à une situation où l'exercice est pratiqué de façon régulière permettant ainsi des adaptations bénéfiques au niveau cardio-vasculaire et musculaire (Camera et al., 2016; Nystoriak & Bhatnagar, 2018) qui sont associées à des bénéfices importants pour la santé (Arem et al., 2015; Wahid et al., 2016). Au niveau cardio-vasculaire, ces adaptations vont résulter en une augmentation du débit cardiaque ainsi qu'un contrôle vasomoteur beaucoup plus fin permettant ainsi d'augmenter l'oxygénation des organes au cours de l'exercice (Green et al., 2011; Nystoriak & Bhatnagar, 2018). De plus, au niveau musculaire, l'exercice chronique aérobie permet d'augmenter la perfusion sanguine grâce à une

vasodilatation augmentée grâce à une production de NO accrue par l'endothélium (Green et al., 2011). L'exercice aigu entraîne une augmentation de la contrainte de cisaillement du sang sur l'endothélium ce qui provoque une production locale de NO (Korthuis, 2011). Ainsi, la répétition de ces stimuli va permettre d'augmenter la production de NO et donc l'amplitude de la vasodilatation induite par le flux (Sun et al., 1994; Taddei et al., 2000). Cette adaptation a été mise en évidence chez les sujets sains (Sugawara et al., 2007; Sun et al., 1994; Taddei et al., 2000) mais également dans plusieurs pathologies chroniques (Higashi et al., 1999; Linke et al., 2001; Maiorana et al., 2000; Moriguchi et al., 2005). Dans le contexte de la drépanocytose, l'exercice chronique aérobie pourrait augmenter la biodisponibilité en NO limitant ainsi les conséquences vasculaires liées à la pathologie. Enfin, comme décrit précédemment, l'inflammation et le stress oxydatif ont un rôle central dans le développement de la physiopathologie de la drépanocytose (Nader et al., 2020). Ainsi, les effets anti-inflammatoires (Petersen & Pedersen, 2005) et anti-oxydants (de Sousa et al., 2017) de l'exercice chronique constitueraient une stratégie thérapeutique intéressante pour limiter l'implication de ces deux paramètres. En effet, l'exercice chronique aérobie diminue la concentration plasmatique en CRP (Fallon et al., 2001; Mattusch et al., 2000), en TNF- α (Nilsson et al., 2019) et en IL-6 (Lavin et al., 2020; Viana et al., 2014) qui sont des médiateurs fortement impliqués dans l'apparition d'un environnement pro-inflammatoire lors du vieillissement et dans plusieurs pathologies chroniques, dont la drépanocytose (Flynn et al., 2007). Enfin, bien que l'exercice aigu soit associé à une augmentation transitoire du stress oxydatif systémique, qui est expliquée par la production d'EORs musculaires (Powers et al., 2011), l'exercice chronique aérobie est associée à une diminution du stress oxydatif systémique chez le sujet sain (de Sousa et al.,

2017). En effet, plusieurs études ont montré qu'un exercice chronique aérobie permettait de diminuer la peroxydation lipidique plasmatique et dans le GR (Miyazaki et al., 2001; Pialoux et al., 2006) indiquant ainsi que l'exercice chronique aérobie limiterait les dommages oxydatifs cellulaires. De plus, il permettrait d'augmenter la capacité antioxydante plasmatique et érythrocytaire ce qui diminuerait ainsi le stress oxydatif. Plus précisément, suite à ce type d'exercice, l'activité de la SOD, de la CAT et de la GPx étaient augmentées dans le GR (Mena et al., 1991; Ohno et al., 1988; Robertson et al., 1991; Tessier et al., 1995) et au niveau plasmatique (Miyazaki et al., 2001). Plusieurs études ont montré que l'activité de la glutathion réductase étaient également augmentée avec l'exercice chronique aérobie (Evelo et al., 1992; Tessier et al., 1995) indiquant ainsi que la régénération du glutathion étaient plus rapide chez les sujets entraînés. En conclusion, l'exercice chronique aérobie est capable d'induire des effets bénéfiques sur le stress oxydatif et l'inflammation. Dans le contexte drépanocytaire, ce type d'exercice constitue une piste thérapeutique intéressante dans la limitation de ces deux paramètres et dans l'amélioration de l'état clinique des patients. Ainsi, cela a amené plusieurs équipes s'intéresser aux effets de l'exercice chronique aérobie chez les patients drépanocytaires.

b- L'exercice chronique aérobie dans la drépanocytose

Une étude pionnière menée par Barbeau *et al* en 2001 s'est intéressée aux effets de la répétition sur 3 jours consécutifs d'un exercice aérobie sous-maximal chez les patients drépanocytaires sur l'inflammation et le métabolisme du NO (Barbeau et al., 2001). Cependant,

l'étude n'ayant duré que 3 jours afin d'éviter d'éventuelles complications cliniques, les résultats obtenus avaient une portée limitée. Afin d'étudier les effets de l'entraînement tout en évitant d'induire des complications cliniques graves, les premières études ont été réalisées dans des modèles pré-cliniques de souris drépanocytaires : les modèles SAD et Townes. Les souris SAD sont des souris transgéniques exprimant une hémoglobine mutée avec trois mutations : la $\beta S^6\text{Val}$, la mutation Antilles $\beta S^{23}\text{Ile}$ et la mutation D-Punjab $\beta S^{121}\text{Gln}$ (Trudel et al., 1991). D'un point de vue phénotypique, elle se caractérise par une sévérité modérée avec une absence des modifications hématologiques observées chez les patients (Trudel et al., 1994). Cependant, en conditions hypoxiques, il est possible d'observer certaines complications cliniques de la drépanocytose liées à la falciformation des GRs. Le modèle Townes, quant à lui, est caractérisé par des souris humanisées « knock in », c'est-à-dire dont le gène humain codant pour l'hémoglobine humaine est exprimé à la place du gène murin (Wu et al., 2006), ainsi, il est possible d'obtenir des souris de génotype A/A, A/S ou S/S. D'un point de vue phénotypique, c'est un modèle sévère de la pathologie dans lequel il est possible d'observer des altérations hématologiques, spléniques, pulmonaires et hépatiques semblables à celles observées chez les patients (Wu et al., 2006). De plus, elle présente un profil inflammatoire et un stress oxydatif semblable à ceux des patients au niveau cardiaque, hépatique, splénique et pulmonaire (Charrin et al., 2016). Par conséquent, ce modèle plutôt représentatif de la pathologie drépanocytaire est de plus en plus utilisé par les différentes équipes de recherche étudiant la drépanocytose. Les différentes études menées chez ces souris ont montré des effets bénéfiques de l'entraînement aérobie ou de l'activité physique sur plusieurs paramètres impliqués dans la physiopathologie de la drépanocytose. En effet, une augmentation de l'activité physique spontanée de 8 semaines

chez des souris SAD a entraîné une diminution des altérations hémorhéologiques (Faes et al., 2015), du stress oxydatif dans le cœur (Charrin et al., 2015) et de l'activation endothéliale pulmonaire au moment d'un cycle d'hypoxie/réoxygénation (Aufradet et al., 2014). Un entraînement aérobie de 8 semaines a permis de limiter l'inflammation (nombre de globules blancs et cytokines pro-inflammatoires) chez des souris Townes (Charrin et al., 2017), ainsi que la congestion de la rate. Ces études ont permis de montrer que l'exercice chronique modéré avait des effets bénéfiques sur plusieurs paramètres physiopathologiques de la drépanocytose amenant ainsi plusieurs équipes à s'intéresser aux effets de ce type d'entraînement chez les patients drépanocytaires. Une première étude publiée par Gellen *et al* (2018) a montré qu'un entraînement de 8 semaines, avec 3 sessions de 45 minutes d'exercice aérobie sous maximal, avaient des effets bénéfiques très intéressants chez des patients drépanocytaires S/S. En effet, la capacité à l'exercice des patients entraînés était améliorée avec une augmentation de la VO_{2pic} et de la puissance produite au SV1. Ensuite, Abd El-Kader & Al-Shreef (2018) ont mis en évidence qu'un entraînement aérobie de 12 semaines à 70% de la fréquence cardiaque maximale avait un effet anti-inflammatoire important chez les patients drépanocytaires S/S. En effet, à la suite de cet entraînement, la concentration sanguine en TNF- α et IL-6, deux médiateurs pro-inflammatoires, ainsi que le nombre de globules blancs sanguins étaient diminués. Enfin, il a été montré que 6 semaines d'entraînement à 70% de l'intensité atteinte au SV1, 2 fois par semaine, avait des effets bénéfiques au niveau sanguin chez des enfants drépanocytaires (Grau et al., 2019). Ce protocole d'entraînement a diminué la concentration en hémoglobine libre et a également amélioré le métabolisme du NO au niveau sanguin et dans le GR. De plus, les enfants drépanocytaires entraînés présentaient une efficacité ventilatoire

accrue au cours de l'exercice par rapport aux enfants du groupe contrôle. Ces études n'ont rapporté aucune complication clinique grave chez les patients au cours et après le protocole confirmant ainsi l'innocuité de l'exercice modéré et individualisé pour cette population. Il est également à noter qu'en plus des bénéfices physiologiques énoncés, Gellen *et al* ainsi que Grau *et al* rapportent que les patients ayant suivi les protocoles d'entraînements ont également augmenté leur niveau d'activité physique spontanée dans leur vie quotidienne. En conclusion, ces études encourageantes montrent un bénéfice certain de l'activité physique pour la prise en charge et l'amélioration de l'état clinique des patients drépanocytaires.

Chapitre 3 - LA FONCTION MUSCULAIRE

SQUELETTIQUE

Comme décrit dans les paragraphes précédents, la drépanocytose est une maladie de l'hémoglobine qui se caractérise par des altérations cardio-vasculaires qui sont responsables de complications cliniques graves. Cependant plusieurs études ont récemment mis en évidence des altérations profondes du muscle squelettique drépanocytaire à la fois au niveau histologique mais aussi fonctionnel. Ainsi, ce chapitre s'intéressera au muscle squelettique et ses altérations dans le cadre de la drépanocytose. La structure et la fonction du muscle squelettique seront décrites puis dans une seconde partie, les altérations spécifiques à la drépanocytose seront présentées ainsi que les effets de l'exercice aigu et chronique sur le muscle squelettique drépanocytaire.

I- Le muscle squelettique : structure et fonction

1- Le muscle squelettique

a- *Structure*

Le rôle principal du muscle squelettique est d'assurer la locomotion via la mise en mouvement du squelette et le maintien de la posture. Ainsi anatomiquement, le muscle est directement attaché aux os ou indirectement via les tendons. La structure du muscle est organisée selon plusieurs niveaux hiérarchisés qui vont lui permettre de produire et de transmettre la force nécessaire à la production d'un mouvement. L'unité de base du muscle

squelettique est la fibre musculaire qui est une cellule de forme cylindrique qui s'étend sur toute la longueur du muscle. Ces fibres vont se regrouper en faisceaux musculaires qui vont eux-mêmes se regrouper pour former le muscle squelettique. Chacune de ces structures est entourée d'une capsule de tissu conjonctif qui a un rôle de transmission de la force et un rôle de protection : l'endomysium pour les fibres, le périmysium pour les faisceaux et enfin l'épimysium pour le muscle entier (Figure 12). Cependant à l'intérieur du muscle, il est possible de trouver d'autres cellules que les fibres musculaires qui jouent également un rôle dans la fonction du muscle squelettique.

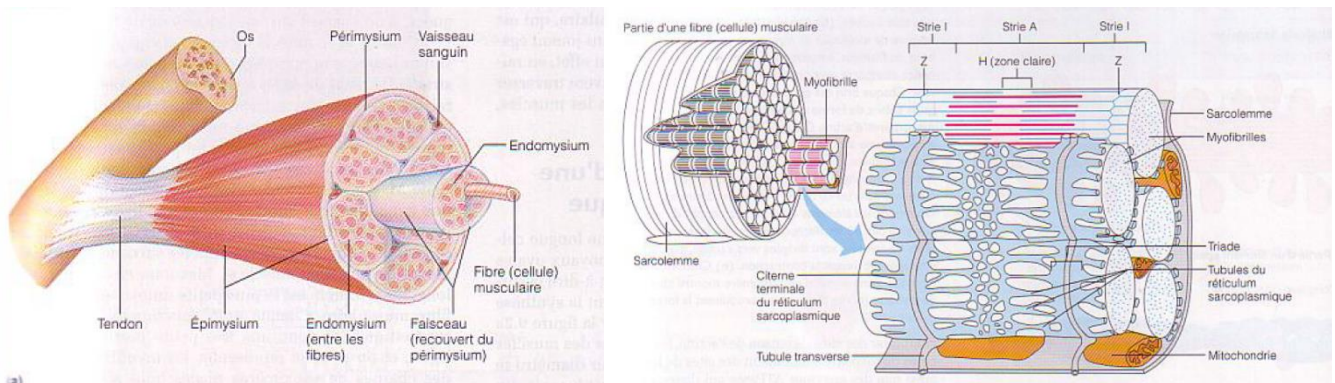


Figure 12 : Structure (gauche) et ultrastructure (droite) du muscle squelettique

(Illustration extraite de Marieb, 1998).

En effet, il est possible d'observer la présence de motoneurones qui innervent les fibres permettant ainsi la transmission des messages nerveux initiant la contraction. De plus, du fait de sa fonction, le muscle squelettique est un organe qui présente une consommation énergétique élevée nécessitant des échanges importants avec le sang. Ainsi, le muscle est un organe très fortement vascularisé permettant l'apport en substrats et en O_2 et l'évacuation des déchets métaboliques. De la même façon que le muscle squelettique, la fibre musculaire va être

organisée selon plusieurs niveaux hiérarchiques qui vont lui permettre d'assurer sa fonction contractile. En effet, la fibre musculaire est constituée d'un regroupement de structures plus petites appelés myofibrilles reliés à la membrane plasmique. Ces myofibrilles sont composées de structures protéiques complexes, les sarcomères, composés principalement de filaments épais de myosine et des filaments fins d'actine et reliés physiquement à la membrane plasmique. D'un point de vue fonctionnel, elles ont la capacité de se raccourcir entraînant la membrane plasmique et donc provoquent un raccourcissement général de la fibre, qui va être à la base de la contraction musculaire. De plus les myofibrilles sont entourées d'un réseau de réticulum endoplasmique particulier, le réticulum sarcoplasmique, qui stocke des quantités importantes de calcium nécessaire à la contraction musculaire. Le muscle squelettique est également composé de structures protéines complexes appelées sarcomères, qui lui confère son aspect strié (Figure 12). Le sarcomère est l'unité contractile de base de la fibre musculaire et est composé de myofilaments épais de myosine et fins d'actine. Ces myofilaments s'organisent de manière particulière au sein du sarcomère : 6 filaments d'actine vont être disposés parallèlement autour d'un filament de myosine et, par conséquent, 1 filament d'actine se trouve au milieu d'un triangle de filaments de myosine. Cette organisation particulière a pour but de permettre l'interaction puis le glissement des filaments d'actine le long des filaments de myosine, entraînant le raccourcissement du sarcomère (Huxley & Niedergerke, 1954; Huxley & Hanson, 1954). De plus, il existe une liaison directe entre les filaments d'actine, la membrane plasmique et l'endomysium via un complexe protéique appelée complexe dystrophine-dystroglycane. Ainsi au niveau de la fibre musculaire, le raccourcissement des sarcomères va entraîner la

production d'une force qui va être transmise le long des disques Z et de l'endomysium jusqu'à l'extrémité du muscle (Frontera & Ochala, 2015).

b- Les protéines contractiles

Les myosines sont une superfamille de protéines motrices qui jouent des rôles clés dans le processus de contraction des cellules musculaires mais aussi non musculaires (Ojima, 2019). Au niveau structural, la myosine est une protéine hexamérique de 500 KDa composée de deux chaînes lourdes, de deux chaînes légères et de deux chaînes légères régulatrices qui ont chacune un rôle précis dans l'activité de la myosine (Figure 13). Les chaînes lourdes sont situées au niveau de l'extrémité N-terminale et forme des structures globulaires, appelées tête de myosine, qui vont assurer le rôle moteur de la molécule.

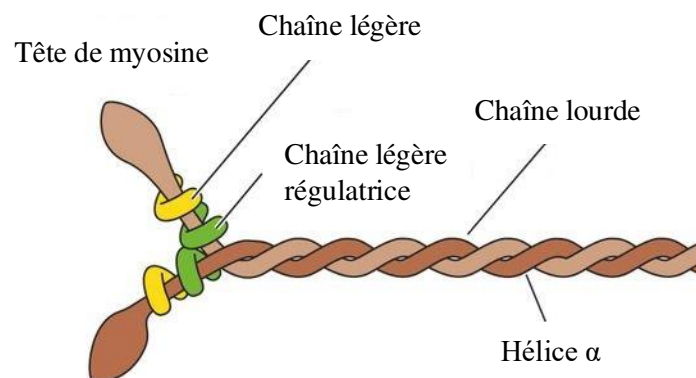


Figure 13 : Représentation schématique d'une molécule de myosine.

En effet, ce sont elles qui se lient aux filaments fins d'actine et les entraînent pour raccourcir le sarcomère. En plus de leur fonction motrice, ces chaînes lourdes de myosine possèdent une activité ATPase permettant ainsi de fournir l'énergie nécessaire au déplacement

des filaments d'actine. Il existe une dizaine d'isoformes de la myosine mais au niveau musculaire, trois sont importantes : la myosine I, la IIa et la IIX, qui diffèrent par leur vitesse d'hydrolyse de l'ATP (Gelfi et al., 2011). Ces différentes vitesses ont un rôle prépondérant dans la vitesse de contraction de la fibre musculaire : plus la vitesse d'hydrolyse est rapide et plus la vitesse de contraction le sera également. Ainsi, il est possible de distinguer les fibres musculaires de type I, IIa et IIX en fonction de l'isoforme de myosine présent majoritairement, et qui diffèrent par leur vitesse de contraction, leur taille ou encore leur métabolisme énergétique (Bloemberg & Quadrilatero, 2012). Les chaînes lourdes de myosine sont reliées aux deux chaînes légères qui vont former une hélice α leur donnant une forme de tige. Enfin, les deux chaînes régulatrices possèdent un rôle dans la vitesse de contraction des fibres et dans la passage d'une typologie de fibre I vers IIa, en fonction de leur état de phosphorylation (Gelfi et al., 2011). L'actine est une protéine globulaire de 43 KDa, l'actine G, qui polymérise pour former des filaments d'actine F formant ainsi les filaments fins du sarcomère (Gelfi et al., 2011). Elle est composée de 4 sous-domaines : les 2 premiers qui interagissent avec les têtes de myosines au moment de la contraction et les deux autres qui interagissent avec les autres composants de l'actine (Figure 14).

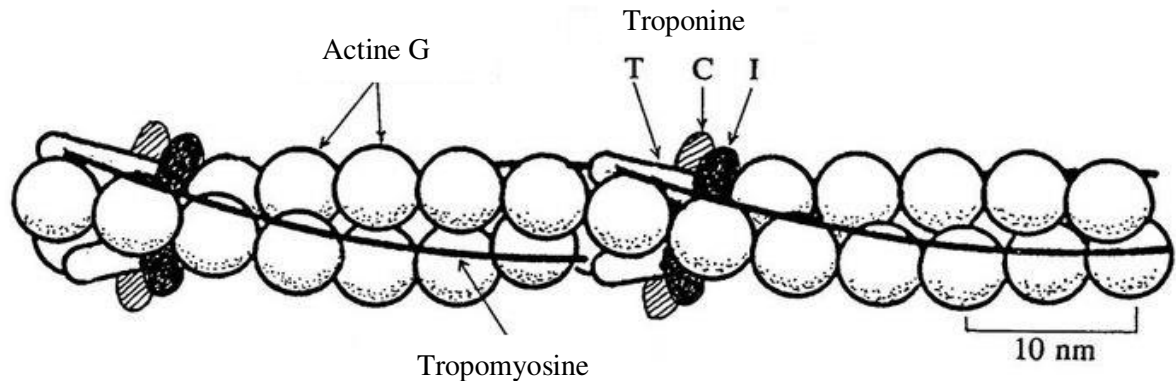


Figure 14 : Représentation schématique de la structure d'une molécule d'actine associée au complexe troponine-tropomyosine.

L'interaction entre la myosine et l'actine est empêchée par un complexe protéique : le complexe troponine-tropomyosine. La tropomyosine est un dimère qui s'enroule autour des filaments d'actine et qui va cacher les sites d'interaction de l'actine avec la myosine. Elle est reliée à la troponine qui est une protéine composée de trois sous-unités : la troponine C, la troponine I et la troponine T qui ont chacune des fonctions bien spécifiques (Ohtsuki & Morimoto, 2008). La troponine T assure la liaison avec la tropomyosine alors que la troponine I joue également un rôle inhibiteur en masquant les sites de liaisons entre l'actine et la myosine. Enfin, la troponine C est capable de fixer le Ca^{2+} libéré par le réticulum sarcoplasmique et joue un rôle central lors du couplage excitation-contraction.

2- Mécanismes cellulaires de la contraction

a- *Le couplage excitation-contraction*

Le couplage excitation-contraction se définit comme la suite d'événements se déroulant entre la stimulation du muscle squelettique par les motoneurones et la contraction musculaire (Figure 15). Ainsi le premier événement de ce couplage est la libération et la fixation de l'acétylcholine sur son récepteur au niveau de la jonction neuromusculaire. Cet événement provoque une dépolarisation transitoire, appelée potentiel de plaque, qui se transforme en potentiel d'action (PA) (Hodgkin & Huxley, 1952) transitant jusqu'au tubule T (Adrian et al., 1969). Les tubules T sont des structures membranaires qui jalonnent la fibre musculaire et qui correspondent à des invaginations du sarcolemme (Franzini-Armstrong & Porter, 1964). A l'intérieur de ces structures, il est possible de trouver des canaux calciques voltages dépendants, les récepteurs aux dihydropyridines (DHPR), reliés à une protéine située sur le réticulum sarcoplasmique, le récepteur à la ryanodine (RyR). Plus précisément, l'interaction entre les deux protéines s'effectue sous forme de tétrades, *i.e.* 4 DHPR sont reliés physiquement à un RyR (Block et al., 1988). Lorsqu'un DHPR s'ouvre sous l'action d'un PA, il va subir un changement allostérique qui provoque l'ouverture du RyR et la libération de Ca^{2+} dans le cytoplasme de la fibre (Ríos et al., 1993). En effet, suite à l'ouverture du RyR, la concentration intracellulaire en Ca^{2+} va augmenter de 100 nM (Williams et al., 1990) jusqu'à 20 μM (Baylor & Hollingworth, 2003). Le Ca^{2+} libéré va ensuite transiter jusqu'aux protéines contractiles et initier le cycle d'interaction actine-myosine responsable de la production de force (Debold, 2012; Holmes & Geeves, 2000). Le Ca^{2+} libéré va se fixer sur la troponine C et induire une

rotation du complexe troponine-tropomyosine sur le filament d'actine permettant de libérer les sites d'interactions entre l'actine et la myosine (Ohtsuki & Morimoto, 2008).

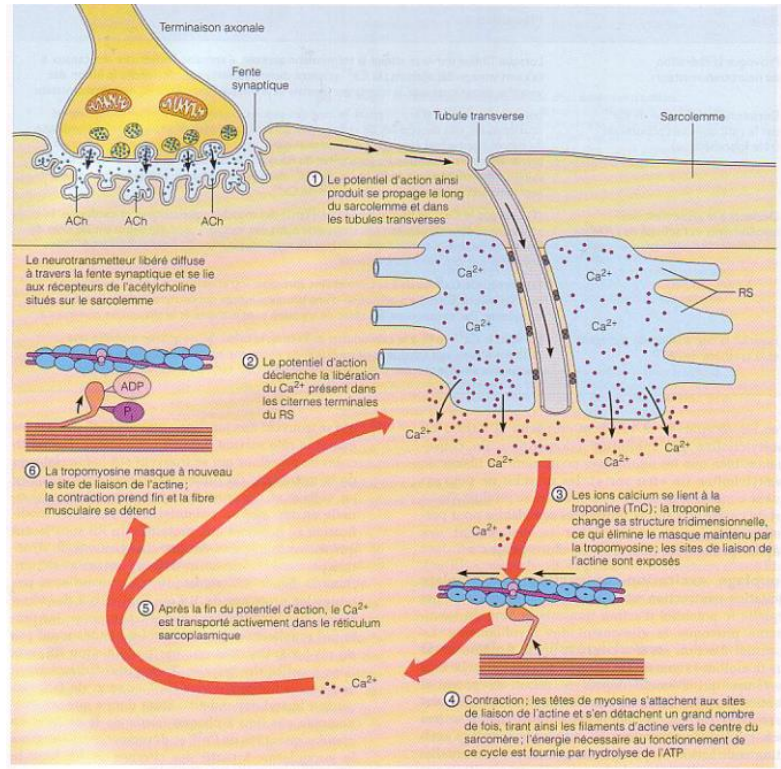


Figure 15 : Résumé des événements ayant lieu au cours du couplage excitation/contraction musculaire (Illustration extraite de Marieb, 1998).

De manière basale, la myosine est reliée à l'actine dans un état de *rigor* permettant ainsi de maintenir une certaine tension au niveau des myofibrilles (Holmes & Geeves, 2000). L'hydrolyse d'une molécule d'ATP au niveau de la myosine ATPase entraîne la formation d'un complexe stable entre la myosine, l'adénosine diphosphate (ADP) et le phosphate inorganique (Pi) qui va se fixer à l'actine (Lymn & Taylor, 1971). A cet instant du cycle, l'interaction entre

ce complexe et l'actine est faible et la myosine va libérer les molécules d'ADP et de Pi provoquant de nouveau une interaction forte entre les deux molécules. La libération de ces deux molécules entraîne un changement conformationnel de la tête de myosine qui est responsable du glissement des filaments d'actine à l'origine du raccourcissement des sarcomères et de la fibre musculaire (Debold, 2012; Holmes & Geeves, 2000). Après cet événement, l'actine et la myosine vont se maintenir dans un état rigide attendant l'initiation d'un nouveau cycle par une molécule de calcium. Les différentes étapes de cette interaction sont résumées dans la figure 16.

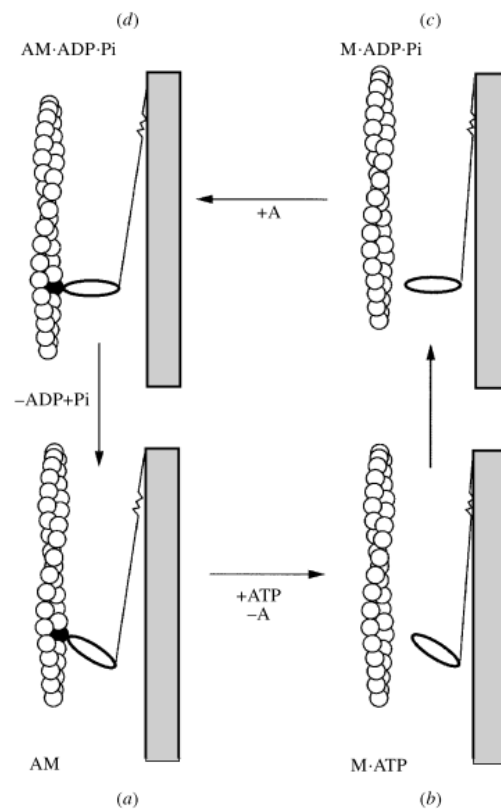


Figure 16 : Résumé des étapes de l'interaction entre l'actine et la myosine menant au raccourcissement du sarcomère et à la contraction musculaire (Extrait de Holmes & Geeves, 2000). A : actine ; AM : Couplage actine myosine ; M : Myosine

b- Le récepteur à la ryanodine (RyR)

Le RyR est un homotétramère situé dans la membrane du réticulum sarcoplasmique dont le rôle principal est la libération du Ca^{2+} . Il existe trois isoformes du RyR dont deux sont spécifiques aux cellules musculaires : le RyR1 au niveau du muscle squelettique et le RyR2 dans le muscle cardiaque (Meissner, 2017). Le RyR3, quant à lui, semble ubiquitaire et s'exprime assez faiblement dans plusieurs tissus dont le cerveau, les muscles lisses ou les fibres musculaires de type I (Meissner, 2017). D'un point de vue structural, elle est constituée de 4 sous unités, ayant chacune un poids moléculaire de 550 KDa, donnant à la protéine une forme caractéristique de champignon (Serysheva et al., 2007). Ainsi, elle est composée d'une partie transmembranaire longiligne, assimilée à la tige du champignon, qui joue le rôle de canal pour les ions Ca^{2+} et d'une partie plus imposante cytoplasmique, assimilée au chapeau, qui a un rôle régulateur (Calderón et al., 2014). Cette partie régulatrice joue un rôle majeur dans la stabilité du RyR, notamment en le maintenant dans un état fermé. En effet, il a été montré dans plusieurs pathologies chroniques qu'une oxydation, une nitrosylation et une hyperphosphorylation du RyR ont un effet déstabilisateur augmentant ainsi sa probabilité d'ouverture. Cela provoque une sortie spontanée de Ca^{2+} déplaçant progressivement les réserves en Ca^{2+} qui entraîne un état musculaire pathologique associée à une concentration intracellulaire en calcium accrue (Andersson et al., 2011; Bellinger et al., 2008, 2009; Waning et al., 2015). La libération de Ca^{2+} va donc être réduite au moment du couplage excitation-contraction ce qui diminue ainsi la force produite par le muscle squelettique. D'un point de vue physiopathologique, ces modifications seraient causées par la présence d'un environnement pro-inflammatoire et pro-oxydant

chronique (Waning et al., 2015). Afin d'éviter ce phénomène, plusieurs molécules ont un rôle stabilisateur pour le RyR en se fixant à la fois sur la partie cytosolique mais également à la partie transmembranaire. En effet, la protéine FKBP12, ou calstabile, va se lier au RyR sur sa partie cytosolique dans le but de le stabiliser (Steele & Samsó, 2019). De la même façon, à l'intérieur du réticulum sarcoplasmique, la calséquestrine se lie au RyR dans sa partie transmembranaire stabilisant la protéine (Wei et al., 2006). Ainsi ces deux protéines vont maintenir le RyR dans un état fermé évitant ainsi une vidange des réserves en Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique.

c- Les pompes SERCA

Les pompes SERCA sont des pompes ATPases dont le rôle est de recapter le Ca^{2+} à l'intérieur du réticulum sarcoplasmique grâce à l'utilisation de molécules d'ATP. C'est une protéine de 110 KDa qui est composée d'une partie transmembranaire ayant une fonction de canal et une partie cytoplasmique composée de trois domaines dont un site ATPase (Periasamy et al., 2017). Il est possible de trouver trois isoformes qui s'expriment dans le muscle squelettique, le muscle cardiaque et des cellules non musculaires et qui se différencient par leur vitesse de recaptage du calcium. Ainsi, SERCA1 est exprimée dans les fibres de type II et possède une vitesse de recaptage du Ca^{2+} élevée alors que SERCA2 est exprimée dans le cœur et les fibres de type I et est caractérisée par une vitesse de recaptage du Ca^{2+} plus lente (Periasamy et al., 2017). De la même manière que le RyR, il semblerait que la nitrosylation de

SERCA limite son activité de recaptage du Ca^{2+} en modifiant notamment son site catalytique pour l'ATP (Álvarez et al., 2009; Ishii et al., 1998; Vázquez et al., 2016; Žižková et al., 2014). L'impact de ces modifications *in vivo* n'est pas encore totalement connue mais la limitation du recaptage du Ca^{2+} pourrait limiter la vitesse de relaxation musculaire.

3- La fonction musculaire

La fonction musculaire peut se définir comme la capacité d'un muscle à produire de la force ou de la puissance mais également par sa résistance aux modifications qui peuvent altérer cette capacité. Elle est la résultante de l'interaction complexe entre des facteurs intrinsèques au muscle squelettique et des modalités de stimulations nerveuses par le SNC. Les altérations de cette fonction peuvent être transitoires, comme au cours d'un exercice, ou chroniques, comme c'est le cas dans de nombreuses pathologies.

a- Concept d'unité motrice et recrutement musculaire

Une unité motrice (UM) est une structure qui se compose d'un motoneurone et de l'ensemble des fibres musculaires qu'il innerve (Heckman & Enoka, 2012) (Figure 17). D'un point de vue physiologique, c'est un transducteur neuro-mécanique, *i.e.* elle a pour fonction la transduction de la commande motrice provenant du SNC en mouvement généré par le muscle squelettique. Ainsi, elle constitue l'unité de base dans la production et le contrôle du mouvement dans la vie quotidienne et dans l'exercice. La fonctionnalité des UMs est conditionnée par deux paramètres : la fréquence de décharge du motoneurone et le type de

fibres musculaires innervées. Elles vont donc se diviser en deux catégories en fonction de leur seuil de recrutement : les UMs de bas seuil et celles de haut seuil (Heckman & Enoka, 2012). Les UMs de bas seuil correspondent à des UMs composées de petites fibres musculaires possédant un seuil de stimulation plutôt bas. Elles sont donc caractérisées par un recrutement rapide mais une force produite plutôt basse. A l'inverse, les UMs de haut seuil sont composées de fibres musculaires avec un diamètre important mais dont les seuils de stimulation sont plus hauts. Ainsi, du fait de leur diamètre, elles produisent une force élevée comparées aux UMs de bas seuil.

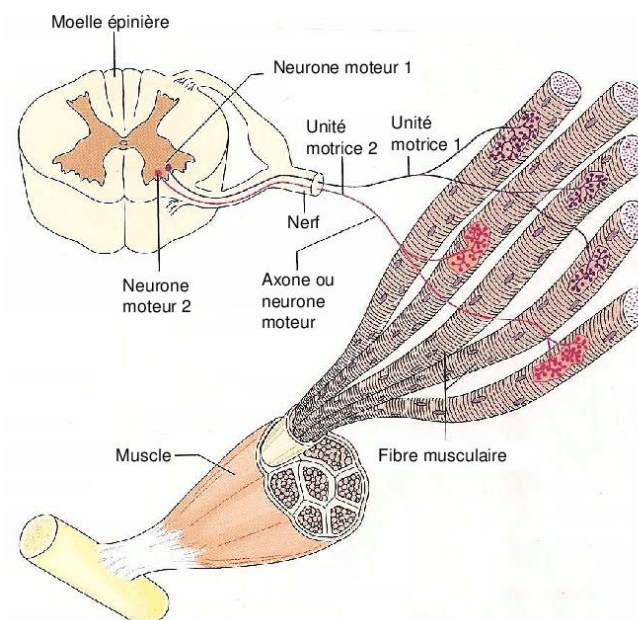


Figure 17 : Schéma simplifié de l'anatomie d'une unité motrice (Illustration extraite de Marieb, 1998)

Au cours du mouvement, ces UMs sont recrutées par le SNC en fonction du mouvement et de la force nécessaire à celui-ci. Le recrutement des UMs par le SNC suit un principe précis, le principe de taille d'Henneman : les UMs de bas seuils sont d'abord recrutées, produisant des

niveaux de force plutôt bas, puis à mesure que la stimulation nerveuse augmente, les UMs de plus hauts seuils vont être recrutées augmentant ainsi le niveau de force produit (Henneman, 1957) (Figure 18). Par conséquent, les UMs possédant le seuil de recrutement le plus haut et produisant le plus de force sont uniquement recrutées au moment de contractions maximales (De Luca & Contessa, 2012). L'activité des UMs est très fortement contrôlée au cours du temps afin d'assurer une fonction optimale à la fois par le SNC (Heckman & Enoka, 2012) et les différents messages afférents (Windhorst, 2007).

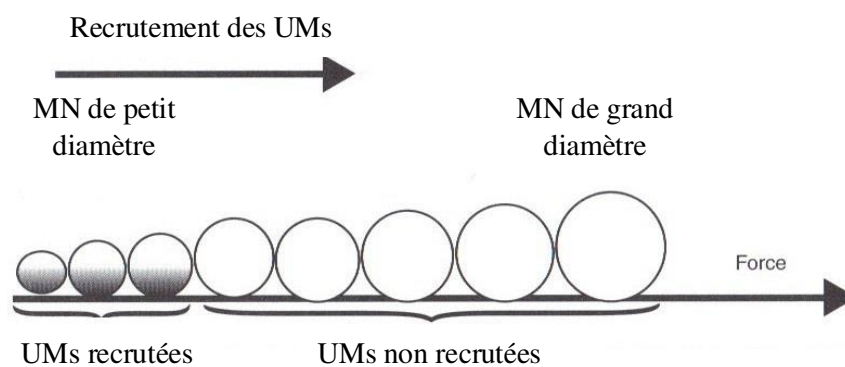


Figure 18 : Schéma représentant le principe d'Henneman expliquant le recrutement des UMs en fonction de la force produite au cours d'une contraction. MN : motoneurone.

b- Recrutement des unités motrices et production de force

La force produite par un muscle squelettique peut être caractérisée par trois relations : la relation Force-Fréquence, la relation Force-Longueur et la relation Force-Vitesse (Gilman & Arbor, 1983). La relation Force-Fréquence correspond à la relation entre la fréquence de décharge des motoneurones et la production de force à une longueur optimale et une vitesse

nulle. En effet, lorsque la longueur et/ou la vitesse du muscle varient, la force produite ne dépend pas uniquement de la fréquence de décharge mais également des autres composantes mécaniques du muscle squelettique (Zajac, 1989). Ainsi, au niveau de l'UM, un même train de PA n'induit pas la même force en fonction des conditions de longueur et de vitesse de raccourcissement et le SNC va ajuster l'activation des UM en fonction de ces conditions (Heckman & Enoka, 2012). Par conséquent, la capacité de production de force d'un muscle est dépendante du nombre d'UM qui la composent et de leur seuil d'excitabilité, en plus des propriétés contractiles musculaires (Van Cutsem et al., 1997) (Figure 19). Ainsi, les plus petits muscles impliqués dans des mouvements fins auront un nombre réduit d'UMs, produisant peu de force, alors qu'à l'inverse, les muscles plus grands possèdent un nombre plus important d'UMs leur permettant de produire plus de force (Jenny & Inukai, 1983). Les UMs sont également très sensibles aux modifications de fréquence de décharge des motoneurones afin de moduler la production de force du muscle (Heckman & Enoka, 2012).

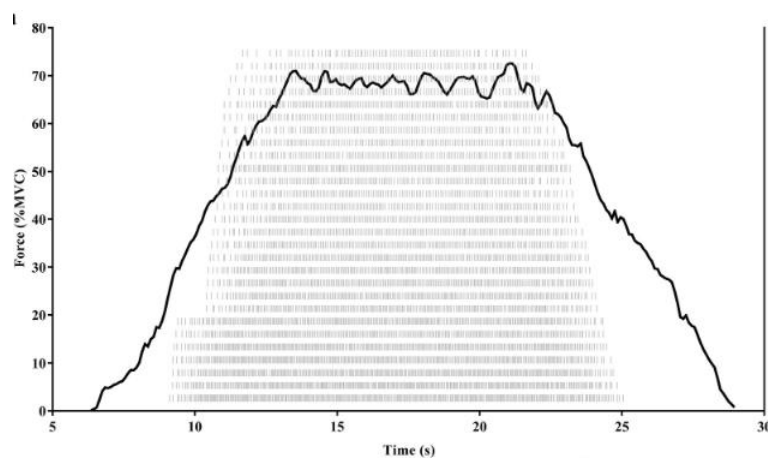


Figure 19 : Relation entre le recrutement des UM et la force produite au cours d'une contraction isométrique du premier interosseux dorsal (Extrait de Parra et al., 2020). Une ligne représente une UM recrutée au cours de la contraction avec chaque trait représentant un potentiel d'action, permettant ainsi d'observer la fréquence de décharge de chaque UM.

II- Le muscle squelettique dans la drépanocytose

1- Modifications histologiques

Dans une première étude, Ravelojaona *et al* ont effectué une biopsie du *Vastus Lateralis*, un des chefs musculaires du quadriceps, chez des patients drépanocytaires S/S et des sujets sains camerounais dans le but de mettre en évidence d'éventuelles modifications histologiques chez ces patients (Ravelojaona *et al.*, 2015). En premier lieu, les patients drépanocytaires S/S présentaient une amyotrophie marquée par rapport aux sujets sains, cependant leurs muscles ne montraient pas de marqueurs de dommages tissulaires. Il est à noter qu'une amyotrophie a été décrite dans plusieurs pathologies chroniques comme le cancer (Powers *et al.*, 2016), l'insuffisance cardiaque (Lavine & Sierra, 2017) et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) (Barreiro & Gea, 2016) et que son origine semble être un environnement caractérisé par un stress oxydatif élevé, une inflammation chronique qui s'ajoute au déconditionnement lié à une sédentarité accrue (Choi *et al.*, 2016; Dasuri *et al.*, 2013; Londhe & Guttridge, 2015; Rom & Reznick, 2016). D'un point de vue de la typologie musculaire, les muscles des patients drépanocytaires sont caractérisés par une diminution du nombre de fibres de type II, particulièrement des fibres de type IIa, et par un maintien du nombre des fibres de type I. Pour expliquer ce phénotype, les auteurs font l'hypothèse que l'activité physique quotidienne réduite des patients ne permettrait de recruter que les fibres de types I plutôt que les fibres de type II, recrutées sur des activités physiques d'intensité plus élevée, maintenant ainsi l'activité contractile et le nombre de fibres de type I et limitant leur amyotrophie. Ils ont également mis en évidence un remodelage profond de la microcirculation sanguine du muscle squelettique drépanocytaire, caractérisé par une diminution de la densité et

de la tortuosité des capillaires ainsi qu'une augmentation de leur diamètre. Ainsi, il est possible que ce remodelage, notamment la diminution de la densité capillaire, implique une diminution de l'oxygénation musculaire à l'exercice comme cela a été montré dans la BPCO (Whittom et al., 1998). Enfin, les auteurs ont observé une diminution de l'activité de la créatine kinase de la β -HAD et de la citrate synthase ainsi qu'une diminution de la quantité en complexes IV et V de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il semblerait donc que la production d'ATP par la voie aérobie soit réduite ce qui expliquerait, avec la diminution de l'oxygénation, l'utilisation préférentielle du métabolisme anaérobie par le muscle squelettique au cours de l'exercice. Cela expliquerait ainsi la lactatémie élevée pour des puissances d'exercice réduite observée chez les patients drépanocytaires (Gellen et al., 2018). Les auteurs de cette étude font l'hypothèse que les modifications musculaires observées chez les patients drépanocytaires S/S seraient la conséquence de la répétition de CVOs silencieuses endommageant progressivement les différentes structures musculaires. De façon générale, les modifications histologiques observées dans le muscle squelettique du drépanocytaire pourraient influencer de façon négative sa fonction et participer à l'intolérance à l'exercice observée chez le patient.

2- Modifications fonctionnelles

a- *Résultats pré-cliniques*

En plus des modifications histologiques présentées dans le paragraphe précédent, plusieurs études pré-cliniques ont mis en évidence des modifications fonctionnelles du muscle

squelettique drépanocytaire. Ainsi, en 2017, Chatel et *al* se sont intéressés aux modifications de la fonction musculaire créées par un exercice localisé dans le modèle Townes (Chatel et al., 2017a). Au cours de cette étude, les auteurs ont soumis des souris saines A/A, hétérozygotes A/S et homozygotes S/S à un protocole de stimulations électriques neuro-musculaires permettant de simuler un exercice au niveau des muscles postérieurs de la patte. Ils ont alors mesuré les différents paramètres mécaniques associés à la production de force et leur évolution à l'exercice, dans le but de caractériser la fatigabilité musculaire. Par rapport aux souris saines A/A, les souris drépanocytaires S/S produisaient moins de force lors d'une secousse musculaire isolée et d'une contraction maximale isométrique. De plus, cette force maximale isométrique était également diminuée chez les souris drépanocytaires S/S après normalisation par la masse musculaire. Ces résultats suggèrent que l'origine de la dysfonction musculaire ne serait pas uniquement l'amyotrophie mais également une dysfonction du couplage excitation-contraction. Ensuite, les souris ont été soumises à deux protocoles d'exercice, un exercice modéré et un exercice intense, afin de mesurer l'effet de l'intensité de l'exercice sur la fatigabilité musculaire, quantifiée par la perte de force au cours de l'exercice. Cette perte de force était semblable entre les différents groupes suggérant une fatigabilité musculaire similaire à une intensité d'exercice modérée, cependant à une intensité élevée, celle-ci était supérieure chez les souris drépanocytaires S/S suggérant une fatigabilité musculaire accrue. De plus, la vitesse de montée en force, un marqueur de la capacité du muscle à produire de la force dans un temps court, était réduite à l'état basal chez les souris drépanocytaires S/S et la réduction de cette vitesse de montée en force était beaucoup plus importante à la suite de l'exercice intense chez ces souris. Ainsi, ces résultats indiquent que la dysfonction musculaire chez la souris drépanocytaire n'est

pas seulement caractérisée par un défaut de la capacité à produire de la force mais également par une fatigabilité musculaire accrue. Cette dysfonction semble être la conséquence de modifications intra-musculaires causées par l'environnement physiopathologique de la drépanocytose. Dans une autre étude reprenant les mêmes conditions expérimentales, Chatel *et al* ont ensuite mesuré les modifications métaboliques musculaires au cours de l'exercice en utilisant la technique de résonance magnétique nucléaire (Chatel et al., 2017b). Au cours des deux exercices d'intensité modérée et élevée, les souris S/S présentaient une acidose plus marquée que les deux autres groupes de souris, qui pourraient être expliquée par une utilisation préférentielle du métabolisme anaérobie lactique chez ces souris. L'acidose intracellulaire au cours d'un exercice est un des phénomènes participant à l'instauration de la fatigue musculaire (Allen et al., 2008), ainsi l'acidose plus marquée au cours de l'exercice pourraient participer à la fatigabilité accrue observée chez les souris drépanocytaire Townes.

b- Résultats cliniques

Plusieurs études ont montré que la force maximale isométrique de préhension était diminuée à la fois chez les patients drépanocytaires adultes (Gonçalves et al., 2019; Waltz et al., 2012b) mais aussi enfants et adolescents (Dougherty et al., 2018; Moheeb et al., 2007; Wali & Moheeb, 2011). De plus, Dougherty *et al* (2018) ont mis en évidence qu'après normalisation par le Z-score, cette force maximale isométrique de préhension restait inférieure chez les adolescents drépanocytaires indiquant que le retard de croissance observé dans la drépanocytose ne pouvait pas expliquer à lui seul la dysfonction musculaire. Enfin, lors de ces études, les patients produisaient une puissance pic inférieure lors d'un squat jump maximal

comparés à leurs homologues sains (Dougherty et al., 2018; Moheeb et al., 2007). Ces résultats indiqueraient que la dysfonction musculaire du drépanocytaire apparaîtrait tôt dans la vie du patient, avec un impact important sur la capacité fonctionnelle. Enfin, deux études se sont intéressées à la fatigabilité musculaire du patient drépanocytaire au cours d'un exercice mono-articulaire. La première étude menée par Waltz *et al* (2012) a mesuré la perte de force suite à un exercice isométrique maximal de l'avant-bras et n'a pas observé de différences entre sujets S/S et A/A cependant ce type d'exercice induit plus d'inhibition de la commande motrice volontaire que de baisse de la contractilité musculaire (Babault et al., 2006) et ne semble pas adapté à la mise en évidence d'une implication du muscle squelettique (Waltz et al., 2012b). La seconde étude menée par Gonçalves *et al* (2019) consistait en un exercice composé de 2 blocs de 15 extensions isocinétiques du genou à 240°/s qui n'a également pas induit de fatigue musculaire chez les sujets, ce qui pourraient être expliqué par la faible intensité d'exercice. Par conséquent, la présence d'une fatigabilité accrue du muscle squelettique chez le patient drépanocytaire reste encore à mettre en évidence. Enfin, Gonçalves *et al* ont décrit que les couples de forces produits par les muscles de la cuisse étaient corrélés positivement aux composantes physiques et mentales de la qualité de vie mesurée à l'aide du questionnaire SF-36 (Gonçalves et al., 2019). Ces résultats indiqueraient que le muscle squelettique pourrait être impliqué de façon importante dans la capacité fonctionnelle et la qualité de vie du patient drépanocytaire.

3- Effet de l'entraînement sur le muscle squelettique

a- Généralités

Les adaptations bénéfiques de l'exercice chronique au niveau systémique sont souvent associées à l'exercice aérobic cependant, concernant le muscle squelettique, l'exercice chronique en résistance et aérobic permettent tous deux d'améliorer la fonction musculaire. Ces deux modalités d'entraînement induisent des stimuli différents activant des voies cellulaires distinctes qui se traduisent par des adaptations spécifiques (Camera et al., 2016). En effet, l'entraînement en résistance induit des effets sur la masse musculaire et la capacité de production de force (Lixandrão et al., 2018; Schoenfeld et al., 2016) alors que l'entraînement aérobic augmente la capacité musculaire à utiliser l'O₂ pour produire de l'énergie (Hawley et al., 2018). Une des adaptations principales de ce dernier est l'augmentation de la biogénèse mitochondriale (Viña et al., 2009) associée à une augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme aérobic (Murias et al., 2011; Siu et al., 2003). Cette élévation de la capacité du métabolisme aérobic est également associée à une augmentation de la vascularisation musculaire (Murias et al., 2011; Olver et al., 2015). En effet, l'exercice chronique aérobic est associé à une augmentation de la densité et de la tortuosité capillaire qui serait induite par un facteur de croissance, le vascular endothelial growth factor (VEGF) produit majoritairement par le muscle et l'endothélium (Olver et al., 2015). L'ensemble de ces adaptations semblent être initiées par un facteur de transcription précis : le PGC1- α (Arany et al., 2008; Camera et al., 2016; Kang et al., 2013) dont l'activation se fait par la déplétion importante en énergie (Cantó & Auwerx, 2009) et l'augmentation de la concentration en EORs

(Ferraro et al., 2014) au cours de ce type d'exercice. De plus, il est intéressant de noter que l'augmentation de la concentration en EORs au cours de l'exercice aérobie permet de stimuler la production d'enzymes antioxydantes (Merry & Ristow, 2016) provoquant ainsi l'augmentation de leur activité au sein du muscle squelettique (Laughlin et al., 1990; Plant et al., 2003; Powers et al., 1994). Dans un cadre pathologique, les adaptations musculaires associées à l'exercice chronique aérobie permettent notamment d'augmenter la capacité musculaire à utiliser l'O₂ (Bowen et al., 2015). Ces adaptations associées à celle du système cardiovasculaire permettent ainsi une augmentation de la capacité à l'exercice et de la qualité de vie des patients (Adams et al., 2017). A l'inverse, l'entraînement en résistance est associé à une augmentation de la force maximale du muscle squelettique (Schoenfeld et al., 2015), de la vitesse de production de force (Aagaard et al., 2002) et de la masse musculaire (Damas et al., 2015; Schoenfeld et al., 2016). Les adaptations bénéfiques liées à l'entraînement en résistance semblent être le résultat de modifications intracellulaires (Camera et al., 2016) mais également de l'influx nerveux provenant du SNC (Aagaard et al., 2002; Del Vecchio et al., 2019). Alors que les principaux stimuli des adaptations liées à l'exercice aérobie sont la déplétion en substrats énergétiques et l'augmentation de la production en EORs, le principal stimulus déclenchant les adaptations liées à l'entraînement en résistance est la tension mécanique appliquée au muscle au cours de l'exercice (Adams et al., 2004). L'augmentation de la tension mécanique va activer une voie cellulaire finissant par l'activation de mTOR, le principal facteur de transcription impliqué dans l'augmentation de la masse musculaire (Goodman, 2019). Ainsi, l'entraînement en résistance va provoquer une hypertrophie musculaire (Damas et al., 2015; Schoenfeld et al., 2016) qui est généralement associée à un gain de force maximale du muscle

squelettique (Schoenfeld et al., 2015). De plus, à court terme, ce type d'entraînement entraîne des modifications au niveau de la capacité de recrutement des unités motrices par le SNC qui vont modifier le codage de l'influx nerveux ce qui résulte en un recrutement amélioré des UMs (Del Vecchio et al., 2019). Ainsi ces modifications permettrait un gain de force maximale (Del Vecchio et al., 2019) et de la vitesse de développement de force (Aagaard et al., 2002). De manière traditionnelle, les protocoles de rééducation se sont concentrés sur des modalités d'exercice aérobie. Cependant, il semblerait que l'entraînement en résistance ait des bénéfices intéressants dans les populations pathologiques notamment sur la masse et la force musculaire (McLeod et al., 2019; Westcott, 2012).

b- Résultats pré-cliniques

Les différentes études mettant en évidence des altérations musculaires profondes couplées à celle montrant des bénéfices de l'entraînement aérobie dans la drépanocytose ont naturellement mené à des études s'intéressant aux effets de l'exercice chronique aérobie sur le muscle drépanocytaire. Ainsi, une première étude pré-clinique a étudié les effets d'un exercice chronique aérobie de 8 semaines sur le muscle de souris drépanocytaires Townes (Chatel et al., 2017c). Plus précisément, les auteurs ont mesuré les effets de ce type d'entraînement à la fois sur la fonction musculaire à l'exercice ainsi que plusieurs marqueurs cellulaires et moléculaires impliqués dans le métabolisme énergétique et le stress oxydatif. D'un point de vue fonctionnel, comme décrit précédemment, les souris S/S présentaient une force isométrique maximale

absolue et spécifique, *i.e.* normalisée par la masse musculaire, réduite par rapport aux souris A/A. Cependant bien que l'entraînement n'ait pas entraîné d'augmentation de la force maximale isométrique, la force pic était plus importante chez les souris entraînées quel que soit le génotype. Ainsi, il semblerait que cet entraînement ait eu un effet modéré sur la contractilité musculaire. Au cours de l'étude, les auteurs ont également mesuré les modifications métaboliques au cours de deux exercices d'intensité modérée et élevée induits par stimulations électriques. Un résultat intéressant est que l'acidose marquée présente chez les souris S/S avant entraînement, a été diminuée par l'entraînement pour atteindre des niveaux semblables aux souris A/A. Etant donné le rôle important de l'acidose dans l'altération de la fonction musculaire et dans la survenue des CVOs, cette amélioration indiquerait que l'entraînement aérobic permettrait de limiter les effets de l'exercice sur l'acidose, notamment lors d'exercices de plus haute intensité. D'un point de vue métabolique, dans le *gastrocnemius*, l'entraînement n'a pas induit de modification des enzymes impliquées dans les métabolismes aérobies et anaérobies, sauf pour l'énolase chez les souris S/S. En effet, l'énolase était significativement diminuée chez les souris S/S entraînées ce qui pourrait indiquer que le métabolisme anaérobic serait moins utilisé chez ces souris au profit du métabolisme aérobic. Enfin, au niveau du stress oxydatif, l'entraînement a induit peu de changements dans le *tibialis anterior* des souris, tous génotypes confondus, exceptée une diminution de la peroxydation lipidique dans l'ensemble des groupes. De plus, l'activité de la catalase était significativement diminuée chez les souris S/S par rapport aux A/A quel que soit le statut d'entraînement. En conclusion, bien que les modifications observées dans cette étude soient modestes, l'augmentation de la force pic et la

diminution de l'acidose post exercice à la suite de cet entraînement pourraient avoir des effets bénéfiques dans l'amélioration de l'état clinique des patients drépanocytaires.

c- Résultats cliniques

Le protocole d'exercice chronique EXDRE, décrit précédemment (Gellen et al., 2018), a également étudié les effets de l'entraînement sur le muscle squelettique au niveau histologique et métabolique. Les patients entraînés présentaient une augmentation de la taille des fibres musculaires, indiquant que l'entraînement pourrait limiter l'amyotrophie présente chez les patients (Gellen et al., 2018). De plus, les patients entraînés présentaient une augmentation de la densité capillaire et du nombre de capillaires en contact avec une fibre musculaire, avec un pourcentage d'augmentation nettement plus grand pour les fibres de types I (Merlet et al., 2019). Les auteurs ont également mesuré deux marqueurs histologiques permettant d'estimer des paramètres fonctionnels : 1) le rapport entre la surface de contact du capillaire avec la fibre et la taille de la fibre et 2) le produit de la densité, de la surface des capillaires et de la concentration en hémoglobine. Le premier permet d'estimer la surface d'échange entre le capillaire et la fibre musculaire et il était augmenté quel que soit le type de fibre chez les patients entraînés, avec une augmentation plus importante pour les fibres I et IIa. Le second marqueur permet d'estimer le volume de sang passant à l'intérieur des capillaires et il était également plus important chez les patients entraînés. Mis en relation, ces deux marqueurs suggèrent un volume de sang transitant par les capillaires plus élevé ayant pour conséquence des échanges accrus

entre le sang et la fibre musculaire. Cependant, ce résultat reste à nuancer car il ne prend pas en compte les effets hémodynamiques présents dans la microcirculation pouvant aussi modifier l'oxygénation musculaire. Par ailleurs, la prise en compte du taux d'hémoglobine dans les calculs ne tient pas compte de l'effet Fåhræus (Fåhræus, 1929) survenant dans la microcirculation et qui correspond à une diminution de l'hématocrite (et donc du taux d'hémoglobine) avec la diminution du diamètre des vaisseaux, jusqu'à atteindre un diamètre vasculaire critique en dessous duquel l'hématocrite ré-augmente. Ainsi le taux d'hémoglobine mesuré sur un prélèvement veineux ne correspond pas au taux d'hémoglobine dans les capillaires. Enfin, l'exercice chronique aérobie a également entraîné une augmentation des enzymes impliquées dans le métabolisme aérobie (Merlet et al., 2020). En effet, l'activité de la β -HAD, de la citrate synthase et de l'activité du complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale étaient plus élevées chez les patients entraînés. De plus, une augmentation de l'activité de la cytochrome oxydase 1 a également été observée dans les fibres musculaires de type I des patients entraînés. Enfin, contrairement aux enzymes impliqués dans le métabolisme aérobie, les enzymes du métabolisme anaérobie et les transporteurs impliqués dans la régulation du pH cellulaires n'ont pas été modifiés par l'entraînement. Ainsi, l'ensemble des résultats suggèrent que l'exercice chronique a grandement amélioré la capacité aérobie musculaire des patients drépanocytaires à la fois sur l'apport et l'utilisation de l'O₂ au cours de l'exercice. En effet, les modifications histologiques observées suggèrent un apport en O₂ accru, notamment au niveau des fibres de type I et IIa. De plus, l'augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme aérobie dans les fibres de type I et IIa indiqueraient que la capacité à utiliser de l'oxygène est améliorée chez les patients drépanocytaires entraînés. Ces

hypothèses peuvent en partie se vérifier avec la diminution du quotient respiratoire, de la lactatémie et de la fréquence ventilatoire, pour une puissance donnée, observée dans le groupe de patients entraînés. Les modifications rapportées par cette étude clinique montrent que l'entraînement aérobie individualisé, même de faible intensité, a des effets bénéfiques sur le muscle squelettique et la capacité à l'exercice de façon générale.

Chapitre 4 – LA FATIGUE MUSCULAIRE :

DEFINITION ET CARACTERISATION

Au cours d'un exercice aigu, le phénomène de fatigue musculaire apparaît progressivement diminuant ainsi les performances et pouvant entraîner même l'arrêt de l'exercice. Dans un contexte pathologique, les altérations du muscle squelettique peuvent être responsables d'une apparition précoce de la fatigue musculaire (Bachasson et al., 2013; Buller et al., 1991) voir d'une fatigue chronique (Twomey et al., 2017), qui seraient impliqués dans la réduction de la capacité fonctionnelle des patients (Arena et al., 2014; Nyberg et al., 2016). Dans ce chapitre, le concept de fatigue musculaire aiguë ainsi que les différents mécanismes pouvant expliquer son apparition au cours de l'exercice seront décrits dans une première partie. Puis dans une seconde partie, son exploration au cours d'un exercice par l'électromyographie (EMG) sera expliquée.

I- La fatigue musculaire

1- Définition

La fatigue musculaire se définit comme une réduction de la capacité du muscle à produire une force et/ou une puissance induite par l'exercice (Gandevia, 2001). Elle constitue un phénomène complexe dont les causes sont multifactorielles, impliquant les cortex cérébraux jusqu'au protéines musculaires contractiles (Allen et al., 2008; Debold, 2012; Gandevia, 2001). Bien que partiellement remis en question au cours des dernières années, les causes de la fatigue

ont été longtemps divisées en deux groupes : les causes centrales désignant les modifications ayant lieu en amont de la jonction neuromusculaire et les causes périphériques qui désignent les modifications en aval de la jonction neuromusculaire (Amann et al., 2013; Babault et al., 2006; Bigland-Ritchie et al., 1978; Gandevia, 2001; Lambert et al., 2005). Les causes centrales regroupent généralement les modifications de la commande nerveuse qui vont avoir pour résultat une diminution de l'influx nerveux descendant en direction du muscle. Ces modifications peuvent être dues à des facteurs psychologiques (Marcora & Staiano, 2010) et /ou physiologiques comme une diminution de l'excitabilité corticale (Petersen et al., 2003) ou l'augmentation de feedbacks inhibiteurs provenant du muscle squelettique (Amann & Dempsey, 2008). Les causes périphériques, quant à elles, se caractérisent plutôt par les modifications moléculaires intramusculaires menant à une diminution de l'excitabilité membranaire (Allen et al., 2008), une accumulation de métabolites limitant l'interaction actine-myosine (Debold, 2012) et/ou une dysfonction de l'homéostasie calcique (Cheng et al., 2018). La principale conséquence de la fatigue musculaire étant une diminution de la capacité à produire une force et/ou une puissance, son influence dans la performance sportive a été très étudiée (Alhammoud et al., 2018; Enoka & Duchateau, 2008; Fiorenza et al., 2019; Girard et al., 2011; Millet, 2011). Cependant les populations de sujets sains et entraînés constituent une population particulière dans laquelle les facteurs psychologiques de la fatigue musculaire peuvent être moins impactant par rapport aux modifications physiologiques (Enoka & Duchateau, 2016). Ainsi, l'étude et la création de modèles impliquant majoritairement les modifications physiologiques comme explications ont été privilégiés (Lambert et al., 2005; Neyroud et al., 2016; Noakes, 2011, 2012), malgré quelques travaux montrant l'importance des

facteurs nerveux et psychologiques dans l'apparition de la fatigue musculaire (Inzlicht & Marcora, 2016; S. Marcora, 2009; Marcora & Staiano, 2010; Van Cutsem et al., 2017). A l'inverse, dans une population pathologique, il semblerait que l'apparition précoce de la fatigue musculaire ne puisse pas être expliquée seulement par des altérations musculaires mais également par des facteurs psychologiques. Ces facteurs auraient une grande importance notamment en raison du fait que les individus sédentaires sont peu habitués à ressentir les modifications corporelles inhérentes à l'exercice et que cela peut amplifier les mécanismes inhibiteurs. (Enoka & Duchateau, 2016). Ainsi, Enoka et Duchateau (2016) ont proposé un modèle dans lequel la fatigue musculaire serait expliquée par l'interaction entre la fatigabilité de performance et la fatigabilité psychologique. La fatigabilité de performance regroupe les mécanismes physiologiques classiquement décrits comme responsable de la fatigue musculaire. La fatigabilité psychologique, quant à elle, regroupe la perception de l'effort ainsi que des facteurs comme la motivation, la fatigue ou encore même la dépression. Par conséquent dans ces populations, il est possible que l'arrêt d'un exercice puisse être provoqué autant par une augmentation de la perception de l'effort et une baisse de motivation que par des modifications physiologiques liées à la fatigue musculaire.

II- Mécanismes d'apparition de la fatigue musculaire

1- Causes centrales

La création d'un mouvement est un phénomène complexe commençant par la création d'un message nerveux au niveau des cortex moteurs qui va ensuite transiter via la moelle

épinière jusqu'au muscle afin d'initier la contraction. Au cours d'un exercice physique, il est possible d'avoir une inhibition de ce message nerveux au niveau de plusieurs sites par lequel il va transiter. Ces inhibitions ont pour principale conséquence une diminution de l'activation volontaire du muscle squelettique et donc un recrutement d'un nombre plus réduit de fibres musculaires. Ainsi, étant donné que moins de fibres musculaires vont être recrutées, la force produite par le muscle sera diminuée. Les causes de ce déficit d'activation nerveuse sont principalement de trois types : une diminution du recrutement des UMs et/ou de l'excitabilité des cortex moteurs, l'apparition de feedbacks inhibiteurs provenant de la périphérie et enfin, des facteurs psychologiques notamment motivationnels (Figure 20).

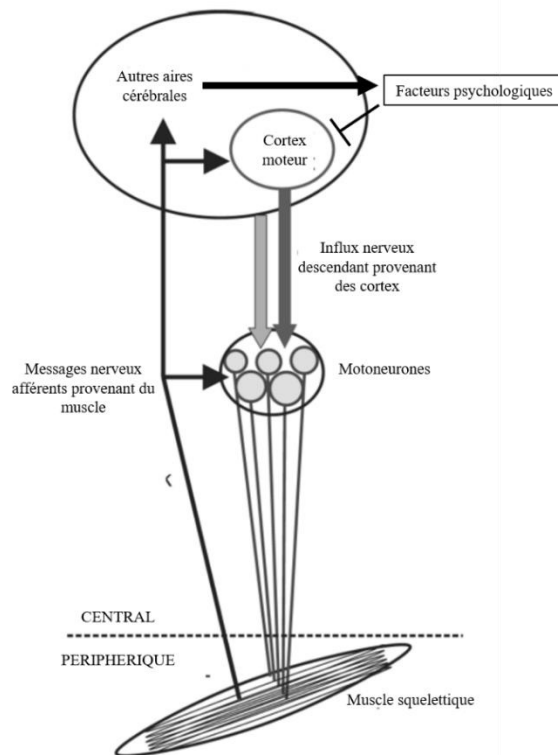


Figure 20 : Résumé des causes centrales et de leurs interactions ayant pour conséquence une diminution de l'influx nerveux généré par les motoneurones. Adapté de Taylor et al., 2016).

a- Recrutement des unités motrices

Les modifications du recrutement des UMs au cours d'un exercice sont des mécanismes importants dans l'apparition de la fatigue musculaire dépendants de nombreux facteurs qui se trouvent à la fois aux niveaux supraspinal et spinal (Gruet et al., 2013). Ce mécanisme semble très présent dans des contractions maximales (Taylor et al., 2016) contrairement aux contractions sous maximales. A cette intensité, il semblerait que le recrutement de nouvelles UMs pour compenser la fatigue permettent de limiter ce phénomène (Carpentier et al., 2001). L'excitabilité du motoneurone peut être également fortement altérée au cours de l'exercice à la fois par des mécanismes intrinsèques à celui-ci et à des neuromodulateurs (Taylor et al., 2016). En effet, au cours d'exercice où une contraction sous maximale était maintenue jusqu'à l'échec, une augmentation progressive du niveau de stimulation supraspinale apparaissait pour compenser une diminution de l'excitabilité des motoneurones impliqués (Johnson et al., 2004). Dans ce cas précis, la baisse de l'excitabilité des motoneurones était causée par des modifications de leurs propriétés intrinsèques mais une libération de sérotonine au niveau spinal pourrait également être impliquée (Cotel et al., 2013). Cette diminution de l'excitabilité des motoneurones a essentiellement lieu au niveau spinal mais plusieurs modifications ont été mises en évidence au niveau supraspinal dont la nature dépend de l'intensité de l'exercice. En effet, lors d'un exercice sous maximal, il a été observé que la stimulation des cortex moteurs était augmentée dans le but de compenser pour la diminution de l'excitabilité des motoneurones permettant ainsi de maintenir le recrutement des UMs et la force produite par le muscle (Klass et al., 2008). Malgré cela, il est possible d'observer une fatigue supraspinale au cours de

l'exercice, notamment pour des intensités d'exercice maximales. Par exemple, Gandevia *et al* (1996) ont montré que lors d'un exercice isométrique maximal maintenu pendant 2 minutes, 25% de la perte de force pouvait être expliqué par la diminution de l'activité corticale.

b- Feedbacks inhibiteurs

Le dialogue entre le SNC et le muscle squelettique se fait dans les deux sens : du centre vers la périphérie, via les motoneurones, et de la périphérie vers le centre, via plusieurs types de fibres afférentes, permettant ainsi aux composants du SNC de contrôler l'état de contraction musculaire. Ces fibres afférentes sont de 4 grands types avec des localisations et des stimuli différents qui conditionnent leurs fonctions. Les premières sont les fibres de type Ia et II qui se situent au niveau du fuseau neuro-musculaire, localisé à l'intérieur du muscle squelettique. Ces fibres sont sensibles à l'étirement ainsi lorsque celui-ci est trop important, ces fibres vont être activées et envoyer un message vers la moelle épinière déclenchant une réponse réflexe entraînant la contraction musculaire, c'est le réflexe myotatique (McGinnis, 2005). Les secondes fibres sont localisées dans une partie particulière du tendon, l'organe tendineux de Golgi, et sont sensibles à la tension (Windhorst, 2007). Au repos et cours d'un exercice, les fibres de type I et II seraient plutôt associées à la proprioception (Proske, 2019; Windhorst, 2007) ainsi qu'à la sensation et à l'évaluation de la force associée à un mouvement (Proske & Allen, 2019). De plus, lors de la fatigue musculaire, elles auraient plutôt un rôle protecteur sur la production de force par un effet de stabilisation des articulations (Windhorst, 2007). Enfin,

les derniers types de fibres, les fibres III/IV, sont des fibres métabotropes, *i.e.* qui réagissent à une concentration croissante en métabolites (Hureau et al., 2018; Pollak et al., 2014). Leur activation entraîne l'apparition de messages nerveux inhibiteurs vers le SNC qui ont pour conséquence des sensations de fatigue et/ou de douleurs. Bien que les deux types de fibres réagissent aux mêmes stimuli, les fibres III vont être plutôt impliqués dans des sensations de fatigue alors que les fibres IV vont plutôt créer des sensations de fatigue et de douleurs (Pollak et al., 2014). Au cours d'un exercice, l'accumulation de métabolites produits par l'activité musculaire accrue va activer ces fibres de type III/IV, ce qui va mener à une inhibition de la commande motrice volontaire (Blain et al., 2016; Taylor et al., 2016). Ces fibres sont également associées à un phénomène de décharge corollaire qui va avoir pour conséquence une augmentation de la perception de l'intensité de l'exercice, qui lorsqu'elle est trop importante peut entraîner un arrêt de l'exercice (Hureau et al., 2018; Millet, 2011).

c- Facteurs psychologiques

En plus des mécanismes neurophysiologiques, il semble que la motivation et la fatigue mentale aient un rôle dans la fatigue musculaire notamment lors des exercices impliquant le corps entier. L'implication de la motivation dans la fatigue a été suggérée dans une étude menée par Marcora *et al* (Marcora & Staiano, 2010). Lors de cette étude, des sujets ont effectué un exercice sur ergocycle à 80% de leur puissance aérobie maximale dont l'arrêt était fixé au moment ils n'étaient plus capables de maintenir une fréquence de pédalage de 60 rpm.

Immédiatement après cet exercice, ils ont effectué un test de puissance maximale de Wingate et, de façon surprenante, les sujets étaient encore capables de produire une puissance trois fois supérieure à celle requise pour maintenir l'exercice à 80% de la puissance maximale aérobie. Ainsi, il est possible d'imaginer que ce type d'exercice n'induit pas suffisamment de fatigue pour provoquer une baisse de puissance. Cependant l'augmentation de la fréquence cardiaque, de la lactatémie et de la perception de l'effort ainsi que la baisse importante de puissance au cours de l'exercice suggèrent une fatigue musculaire marquée à la suite de cet exercice. Pour expliquer ces résultats, les auteurs ont proposé que l'arrêt de l'exercice ait été la conséquence d'une interaction entre la motivation des sujets à maintenir l'exercice et la perception de l'effort plutôt que des modifications périphériques musculaires. Dans une revue récente, Van Cutsem *et al* (2017) ont compilé les différentes études s'intéressant aux effets de la fatigue mentale sur la performance. Dans l'ensemble de ces études, une intervention avant l'exercice avait pour but d'induire une fatigue mentale pour étudier ses effets sur la performance dans plusieurs conditions. Dans ces études, la fatigue mentale a diminué le temps jusqu'à l'échec (Marcora et al., 2009; Pageaux et al., 2013), la puissance (Brownsberger et al., 2013) et la performance en course (MacMahon et al., 2014; Pageaux et al., 2014) indiquant ainsi qu'elle aurait un effet inhibiteur sur la performance. Cet effet inhibiteur pourrait être expliqué par une perception de l'effort plus importante dans les groupes fatigués mentalement sans que des modifications physiologiques ne soient observées. A l'inverse, elle ne limiterait pas les performances lors d'exercices d'intensité maximale (Martin et al., 2015; Pageaux et al., 2015). Ainsi, il semblerait que la perception de l'effort provoquée par la fatigue mentale soit un facteur limitant important dans la performance au cours d'exercice sous maximaux.

2- Causes périphériques

Si les causes centrales de la fatigue regroupent les interactions complexes entre excitabilité corticale, feedbacks inhibiteurs provenant des muscles squelettiques et facteurs psychologiques, les causes périphériques résultent quant-à-elles en une incapacité du muscle à produire une force ou une puissance, quel que soit le niveau d'activation volontaire. D'un point de vue moléculaire, elles vont regrouper l'ensemble des modifications des acteurs du couplage excitation-contraction : les protéines contractiles, l'homéostasie calcique et l'excitabilité du sarcolemme. Les réserves énergétiques jouent également un rôle dans l'apparition d'une fatigue musculaire périphérique plus particulièrement au cours des exercices d'endurance et/ou intermittents à haute intensité.

a- Protéines contractiles

L'interaction entre l'actine et la myosine est cruciale pour la production de force au niveau de la fibre musculaire ainsi une altération de cette interaction va immédiatement provoquer une diminution de la force et de la vitesse de contraction. Ces altérations sont provoquées par l'interaction entre le pont actomyosine et les métabolites produits par l'exercice à deux moments du couplage : lorsque la tête de myosine met en mouvement l'actine, modifiant la vitesse de contraction, et lorsque l'actomyosine est dans un état rigide, modifiant la force (Debold, 2012) (Figure 19). La consommation accrue en ATP au cours de l'exercice entraîne une augmentation très importante de la concentration cytoplasmique en ADP et en Pi. Il a déjà

été mis en évidence que des grandes concentrations en P_i inhibait la production de force dans une fibre musculaire non fatiguée (Cooke et al., 1988; Cooke & Pate, 1985; Debold et al., 2004). D'un point de vue moléculaire, les P_i vont avoir tendance à inverser le mouvement de la tête de myosine au cours du cycle retournant ainsi de l'état rigide à l'état de base (Takagi et al., 2004). Par conséquent, le nombre de ponts d'actine-myosine à l'état rigide diminue entraînant une baisse de la force produite par la fibre musculaire. A l'inverse, cette action du P_i sur le couplage actine-myosine entraînerait une augmentation de la vitesse de contraction (Warshaw et al., 1991). En effet, l'inversion du mouvement de la tête de myosine provoquée par le P_i diminue la durée de l'état rigide de la liaison actine-myosine la ramenant plus rapidement à un état de base. D'un point de vue musculaire, cela augmente le nombre de ponts actine-myosine qui sont capables de passer d'un état rigide à un état de base entraînant une augmentation de la vitesse de contraction (Figure 21).

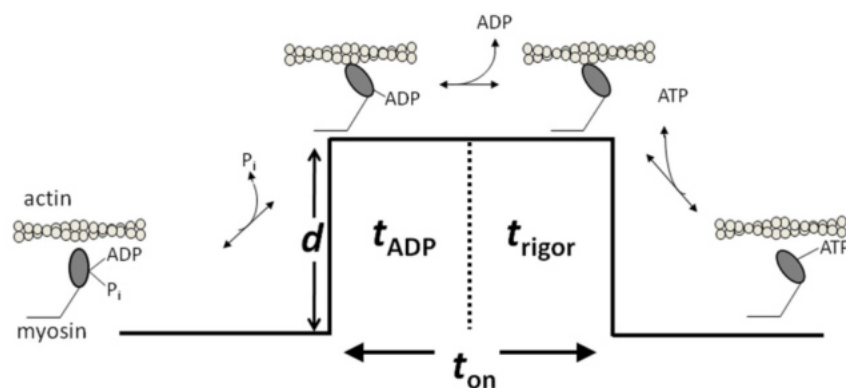


Figure 21 : Modèle représentant les effets de l'ADP et du P_i sur l'interaction actine-myosine au cours de la contraction musculaire (Extrait de Debold, 2012). t_{on} : durée de la liaison entre l'actine et la myosine ; t_{ADP} : durée de la liaison entre l'ADP et la myosine ; t_{rigor} : durée de l'état rigide de l'interaction actine-myosine ; d : déplacement des myofibrilles.

L'ADP, quant à elle, jouerait le rôle d'inhibiteur compétitif avec l'ATP pour le site de la myosine ATPase maintenant le couplage actine-myosine en position rigide (Debold, 2012). Ainsi, à l'inverse du Pi, elle augmenterait le nombre de ponts actine-myosines rigides donc la force produite par la fibre musculaire (Hoar et al., 1987) et diminuerait la vitesse de contraction (Metzger, 1996). De plus, de la même façon que l'ADP et le Pi ont des effets antagonistes sur la production de force et la vitesse de contraction, ces deux molécules ont des effets antagonistes sur la sensibilité des protéines contractiles au Ca^{2+} . En effet, le Pi diminuerait la sensibilité des protéines contractiles au Ca^{2+} alors que l'ADP l'augmenterait (Debold, 2012). Enfin, la participation de plus en plus importante du métabolisme anaérobie dans la production d'énergie entraîne une acidose musculaire qui altérerait la production de force par la fibre musculaire. En effet, plusieurs études ont montré des pertes de force importantes associées à une diminution du pH *in vitro* (Bruton et al., 1998; Westerblad et al., 1997; Westerblad & Allen, 1992) cependant ces pertes de force ont été mesurées à des températures plutôt basse. Ainsi, Plate *et al* (1995) ont montré que la perte de force induite par l'acidose était très dépendante de la température avec une perte de force de 50% à 10°C contre 18% à 30°C. De plus, certaines études *in vivo* ont montré des associations temporelles entre perte de force et acidose alors que d'autres ne l'ont pas observé amenant certains auteurs à questionner son rôle central dans la fatigue (Allen et al., 2008; Westerblad, 2016). En effet, il semblerait que l'acidose joue un rôle important dans la fatigue en association avec le Pi, notamment en diminuant la sensibilité des protéines contractiles au Ca^{2+} (Westerblad, 2016). Enfin, les EOR ont un effet sur la sensibilité des myofibrilles pour le Ca^{2+} qui dépend de la concentration et du temps : à faible concentration et rapidement, elles augmentent la sensibilité au Ca^{2+} des myofibrilles, augmentant ainsi la force

produite pour des fréquences de stimulations sous maximales (Andrade et al., 1998). A l'inverse, lorsque le temps d'exposition est augmenté, comme lors d'un exercice sous maximal, cette sensibilité va fortement diminuer, limitant ainsi la production de force (Powers et al., 2011; Reid et al., 1993). Ainsi, il semblerait que l'effet des ROS sur la fatigue musculaire soit important lors d'exercices sous maximaux alors que l'accumulation de métabolites serait le facteur prépondérant pour des exercices de plus haute intensité (Allen et al., 2008; Cheng et al., 2016).

b- Homéostasie calcique

Au cours d'un exercice, le maintien des flux calciques entre le réticulum sarcoplasmique et les protéines contractiles est primordiale afin de maintenir une rythmicité entre les phases de contraction et relaxation musculaire. Cependant, les modifications de l'homéostasie musculaire à l'exercice entraînent des perturbations de ces flux calciques. Une des principales conséquences de ces altérations est la diminution de la capacité de libération du Ca^{2+} par le RyR, dont la principale conséquence est la réduction de la production de force par la fibre musculaire. De la même façon que pour les protéines contractiles, l'augmentation de la concentration en métabolites produits par le métabolisme énergétique limiteraient la libération de Ca^{2+} par le RyR (Cheng et al., 2018). En effet, l'accumulation de Pi aurait un effet inhibiteur sur la libération de Ca^{2+} par deux mécanismes : une inhibition directe (Duke & Steele, 2001; Steele & Duke, 2003) et par la précipitation avec le Ca^{2+} à l'intérieur du réticulum

sarcoplasmique (Fryer et al., 1995). Plus précisément, l'augmentation progressive de la concentration en Pi au cours de l'exercice entraîne son entrée dans le réticulum sarcoplasmique et sa liaison avec le calcium. Lorsque la solubilité de ce complexe Pi-Ca²⁺ est atteinte, il précipite limitant ainsi les réserves en Ca²⁺ disponibles dans le réticulum sarcoplasmique (Fryer et al., 1995; Kabbara & Allen, 1999). L'augmentation de la concentration en Pi est la conséquence directe de la consommation en ATP et donc de sa diminution au cours de l'exercice. Dans un modèle de fibre isolée, il a été mis en évidence que la diminution de la concentration en ATP était également un inhibiteur de la libération en Ca²⁺ par le RyR (Dutka & Lamb, 2004). Cependant, il semblerait que ce mécanisme ait un effet limité car il faut des diminutions très importantes de la concentration en ATP pour induire une réduction substantielle de la libération en Ca²⁺. Par exemple, lorsque la concentration en ATP est réduite à 0,5 mM, la libération en Ca²⁺ par le RyR est diminuée seulement de 20% (Dutka & Lamb, 2004). Enfin, l'acidose musculaire n'aurait également qu'un effet limité, voire inexistant, sur la libération du Ca²⁺ par le RyR à des pH physiologiques (Laver et al., 2000). Au cours de l'exercice, les EORs semblent avoir un effet plus réduit sur la libération de Ca²⁺ par le RyR au cours d'un exercice, même sous maximal (Cheng et al., 2016, 2018; Westerblad & Allen, 2011). Cependant, les EORs seraient le principal responsable d'une situation de fatigue prolongée après un exercice. En effet, après un exercice, il est possible d'observer une dépression de la force durant un temps prolongé appelé « Prolonged low-frequency force depression » (Allen et al., 2008; Westerblad & Allen, 2011). Cet état peut être provoqué par une diminution de la libération de Ca²⁺ par le RyR (Westerblad et al., 1993) ou par une baisse de la sensibilité des myofibrilles pour le Ca²⁺ (Bruton et al., 2008). Le premier semble lié à une capacité antioxydante musculaire réduire

alors que la seconde serait présente chez des sujets dont la capacité antioxydante est plus importante (Place et al., 2015). Beaucoup d'études se sont focalisées sur les modifications induites par la fatigue sur le RyR et la libération du Ca^{2+} cependant les modifications concernant les pompes SERCA ont été beaucoup moins étudiées. Il a été montré que l'activité de SERCA était diminuée *in vivo* après un exercice mono-articulaire du quadriceps chez des sujets sains (Hill et al., 2001), suggérant ainsi que SERCA pourrait être modifiée par l'environnement lié à la fatigue musculaire. Une potentielle modification pourrait être une oxydation et/ou une nitrosylation de cette protéine au cours de l'exercice qui diminuerait progressivement son activité (Álvarez et al., 2009; Matsunaga et al., 2003; Vázquez et al., 2016) cependant d'autres études sont nécessaires pour caractériser les modifications de SERCA au cours de l'exercice.

c- Excitabilité du sarcolemme

La propagation du PA le long du sarcolemme est possible grâce aux mouvements de Na^+ et de K^+ à travers la membrane plasmique (Hodgkin & Huxley, 1952) permettant ainsi une transmission rapide du message nerveux vers les tubules T (Blijham et al., 2004). Ainsi, l'excitabilité du sarcolemme est un facteur primordial dans le couplage entre l'excitation par le SNC et la production de force par le muscle. En effet, une altération de l'excitabilité membranaire résulterait en une diminution de la capacité du sarcolemme à transmettre le PA jusqu'au tubule T. Il y aurait alors un découplage entre le message nerveux transmis par le motoneurone et la force produite par le muscle squelettique dont une des conséquences va être

une diminution des performances au cours d'un exercice. En effet, il a été observé que la vitesse de conduction des fibres musculaires étaient diminuées au cours d'un exercice (Lowery et al., 2002; Masuda et al., 1999) suggérant que ce phénomène pourrait être impliqué dans la fatigue musculaire. D'un point de vue moléculaire, ce phénomène pourrait s'expliquer par une augmentation de l'efflux en K^+ au cours de l'exercice (Clausen, 2003). Plusieurs études *in vitro* ont montré que l'exercice était associé à un efflux de potassium entraînant une dépolarisation membranaire limitant la propagation du PA et la production de force (Balog & Fitts, 1996; Clausen et al., 2004; Juel, 1986). Cependant, *in vivo*, plusieurs études n'observent pas ce type de modifications et la source de la réduction de la capacité de production de force était liée à une diminution de l'influx nerveux (Bigland-Ritchie et al., 1979, 1983; Sandiford et al., 2005). En effet, il semblerait que plusieurs mécanismes compensatoires soient mis en place pour limiter la diminution de l'excitabilité membranaire au cours d'un exercice. Dans ces mécanismes, il est possible de trouver une diminution du seuil de recrutement des fibres (Bigland-Ritchie et al., 1986), une baisse de la fréquence de décharge de motoneurones (Gandevia, 2001) ou une augmentation de l'activité des pompes Na^+/K^+ ATPases (Allen et al., 2008).

d- Réserves énergétiques

En 1967, deux études ont montré que la durée de l'exercice était fortement corrélée aux réserves en glycogène musculaire (Bergström et al., 1967) et que l'arrêt de l'exercice était

associée à des réserves en glycogène déplétées (Hermansen et al., 1967). Ces premières études ont mis en évidence un lien important entre fatigue musculaire et réserves en glycogène qui sera confirmé par plusieurs études dans les années qui ont suivies (Bangsbo et al., 1992; Gollnick et al., 1972; Pernow & Saltin, 1971). Cependant les mécanismes cellulaires responsables de cette relation entre déplétion des réserves en glycogène et fatigue musculaire sont encore mal connus (Ørtenblad et al., 2013). Un de ces mécanismes pourrait être une diminution de la libération en Ca^{2+} associée à la déplétion des réserves en glycogène. Cette relation a été mis en évidence dans des fibres musculaires isolées soumises à deux protocoles de fatigue séparés par infusion ou non de glucose dans le but de restaurer les réserves en glycogène (Chin et al., 1997). Lorsque les réserves de glycogène étaient renouvelées, la fatigue musculaire entre les deux protocoles n'étaient pas différentes. A l'inverse, lorsque ces réserves demeuraient déplétées, la fatigue musculaire apparaissait plus précocement et était associée à une baisse de libération de Ca^{2+} par le RyR. Alors que la déplétion en glycogène semble être un mécanisme impliqué dans la fatigue musculaire sur des efforts plutôt long (Ørtenblad et al., 2013), les réserves en PCr musculaire semblent être limitantes sur des efforts de courte durée et d'intensité maximale ponctuels ou répétés (Girard et al., 2011). En effet, lorsque l'on soumet des sujets sains à deux sprints espacés par 4 minutes de repos, la puissance développée au second sprint est fortement dépendante des réserves de PCr disponibles (Bogdanis et al., 1996). De plus, lors d'un exercice de répétition de sprint à haute intensité chez des sujets sains, la quantité de travail effectuée était corrélée positivement à la vitesse de resynthèse de PCr (Mendez-Villanueva et al., 2012). Ainsi, cela signifie que plus la quantité de PCr disponible à

chaque sprint est grande et plus le travail fourni est important démontrant ainsi le rôle important des réserves en PCr lors de ce type d'exercice.

3- Influence de la modalité de l'exercice

Les mécanismes d'apparition de la fatigue musculaire centraux et périphériques sont extrêmement dépendants des modalités de l'exercice : intensité, mode de contractions ou exercice impliquant un ou plusieurs muscles. En effet, les structures musculaires impliquées dans l'exercice vont réagir de façon différenciée en fonction des modalités de l'exercice entraînant ainsi l'apparition de modifications intracellulaires, comme l'accumulation de métabolites ou une augmentation du stress oxydatif, responsables de la fatigue musculaire. Historiquement, les premières études s'intéressant à la fatigue musculaire ont été réalisées avec des exercices mono-articulaires dans des modes de contractions isométriques, *i.e.* sans changements de longueur du muscle (Bigland-Ritchie et al., 1983; Gandevia, 2001; Lowery et al., 2002; Masuda et al., 1999; Morel et al., 2015a; Sjøgaard et al., 1988). Ce mode de contraction est préférentiellement associé à des mécanismes centraux plutôt qu'à des mécanismes périphériques de la fatigue, et ce quel que soit l'intensité (Hunter, 2018; Taylor & Gandevia, 2008). En effet, ce type de contraction induirait une modification de la fréquence de décharge et de l'excitabilité des motoneurones, une diminution de l'excitabilité des cortex et une modification de l'activité des fibres afférentes (Taylor & Gandevia, 2008). En 2006, Babault *et al* (2006) ont mis en évidence que la perte de force induite par un exercice mono-articulaire concentrique, *i.e.* induisant un raccourcissement du muscle, n'induisait pas les

mêmes modifications physiologiques que l'exercice isométrique. En effet, bien que la diminution de couple de force ait été similaire entre les deux modes de contractions, l'exercice concentrique était associé à un niveau d'activation central plus haut que pour l'exercice isométrique. Ainsi, le mode de contraction concentrique serait plutôt associé à des mécanismes périphériques de la fatigue. Certains mécanismes périphériques impliqués dans l'apparition de la fatigue induite par ce type d'exercice ont été décrit par Morel *et al* en 2015 (Morel et al., 2015b). Les auteurs ont mesuré la fatigue neuromusculaire induite par trois efforts dont la seule différence était la vitesse angulaire : $0^{\circ}/s^{-1}$, $60^{\circ}/s^{-1}$ et $240^{\circ}/s^{-1}$. Pour un même travail mécanique, les contractions à $240^{\circ}/s^{-1}$ ont induit une perte de couple plus rapide et plus importante que les contractions à $0^{\circ}/s^{-1}$. Au niveau neuromusculaire, l'activation volontaire était fortement réduite dans la condition $0^{\circ}/s^{-1}$ alors qu'en condition $240^{\circ}/s^{-1}$, la fatigue provenait de modifications périphériques. Ces résultats confirment ainsi les observations de Babault *et al* mais les auteurs ont également mesuré plusieurs paramètres énergétiques qui indiquent que dans la condition $240^{\circ}/s^{-1}$, la consommation énergétique était beaucoup plus importante que dans la condition $0^{\circ}/s^{-1}$. Ces résultats montrent que lors d'un exercice mono-articulaire, les mécanismes d'apparition de la fatigue diffèrent fortement en fonction du mode de contraction. Cependant, beaucoup d'exercice dans un contexte sportif ne sont pas mono-articulaires mais plutôt poly-articulaires, voire « corps entier ». Dans ce contexte, les mécanismes d'apparition de la fatigue se mettent en place de façon simultanée et la diminution de la performance résulte en l'interaction de tous ces paramètres (Hunter et al., 2004). Ainsi, au cours de ce type d'exercice, il convient plus de s'intéresser à l'arrêt de l'exercice ce qui permet d'isoler le facteur principal responsable de la diminution de la performance (Hunter et al., 2004). Un mécanisme impliqué

serait l'utilisation préférentielle du métabolisme anaérobie dans la production d'ATP nécessaire au maintien de l'exercice aigu. Cette implication a notamment été mis en évidence dans une étude récente menée par Sundberg *et al* (2017), les auteurs se sont intéressés à la cinétique d'apparition de la fatigue musculaire au cours d'un exercice de d'ergocycle à des intensités variables. Dans cette étude, les auteurs ont observé une relation hyperbolique entre l'intensité de l'exercice et la durée d'exercice (Figure 22). A partir de cette relation, ils ont établi une intensité d'exercice égale environ à 50% du maximum correspondant à la transition entre le métabolisme aérobie vers le métabolisme anaérobie. Ainsi, lorsque le métabolisme anaérobie était fortement sollicité, la durée d'exercice était inférieure à 30 secondes environ et était associée à un recrutement musculaire plus important.

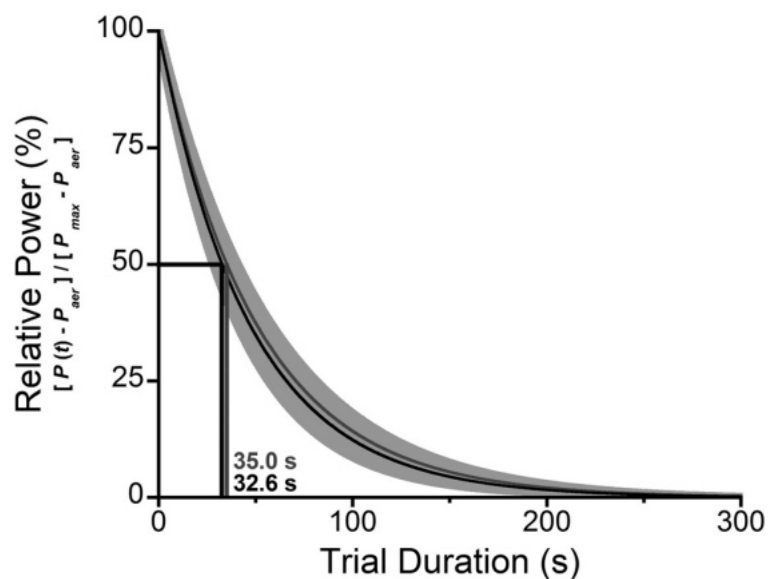


Figure 22 : Relation entre l'intensité de l'exercice et la durée d'exercice au cours d'un exercice de cyclisme (Extrait de Sundberg et al., 2017). L'intensité liée au métabolisme anaérobie (>50% du max) est associée à des durées d'exercice inférieure à 30 secondes pour tous les individus.

Selon les auteurs, cela pourrait être expliqué par une accumulation de métabolites intramusculaires au cours de l'exercice modifiant le couplage excitation/contraction (Debold, 2012) et/ou activant les fibres inhibitrices afférentes III/IV (Blain et al., 2016). A l'inverse, la durée d'exercice associée au métabolisme aérobie était beaucoup plus longue et n'était pas associée à des modifications du niveau de recrutement musculaire au cours du temps. A ces intensités, l'accumulation de métabolites intramusculaires n'a pas lieu et il semblerait que la durée d'exercice soit expliquée plutôt par une interaction entre une élévation des feedbacks inhibiteurs provenant de la périphérie, augmentant la perception de l'effort, et des facteurs motivationnels (Evans et al., 2016; Millet, 2011). Ces données ont été obtenues pour des exercices continus mais il semblerait que le métabolisme anaérobie soit également impliqué dans l'apparition de la fatigue musculaire au cours d'un exercice intermittent de haute intensité (HIIT). Récemment, Fiorenza *et al* (2019) ont étudié la fatigue neuromusculaire et les modifications métaboliques au cours de deux exercices en HIIT à des modalités différentes : 18 répétitions de sprints de 5 secondes et 6 répétitions de sprints de 20 secondes. Ces deux modalités ont été choisies de façon que le travail mécanique soit identique entre les conditions limitant ainsi l'effet de ce dernier sur l'apparition de la fatigue. A la suite de ces exercices, la perte de puissance était plus importante lorsque les sprints avaient une durée de 20 secondes par rapport à ceux de 5 secondes suggérant ainsi une fatigue musculaire marquée dans cette condition. De plus, les différents tests neuromusculaires effectués à la suite des deux tests indiqueraient que dans les deux conditions, la fatigue musculaire serait expliquée par des mécanismes périphériques. L'étude des modifications métaboliques induites par les deux conditions d'exercice montre que les mécanismes mis en place sont différents en fonction de la

durée de chaque sprint. En effet, les sprints de 5 secondes étaient associés à une consommation importante de PCr et une accumulation de métabolites limitée alors qu'à l'inverse, les sprints de 20 secondes privilégiaient l'utilisation de la glycolyse provoquant une accumulation de métabolites et une acidose marquée. Ainsi, la perte de puissance provoquée par les sprints de 5 secondes serait plutôt liée à une accumulation modérée de Pi alors que celle induite par les sprints de 20 secondes seraient la conséquence d'une accumulation importante de métabolites limitant le couplage excitation/contraction (Fiorenza et al., 2019).

III- L'électromyographie : outil de caractérisation de la fatigue musculaire

1- Généralités

L'EMG peut se définir comme l'étude de la fonction du muscle squelettique par l'analyse du signal électrique généré au moment de la contraction musculaire (Luca, 1985). Ainsi, son champ d'utilisation est vaste comprenant le diagnostic neuro-musculaire jusqu'à l'étude des coordinations intermusculaires ou de la fatigue neuro-musculaire se mettant en place au cours d'un exercice. Alors que le diagnostic neuro-musculaire est plutôt effectué par la technique d'EMG intra-musculaire, permettant une analyse fine de l'activité d'une UM, l'étude fonctionnelle du muscle squelettique dans les sciences du sport utilise de façon préférentielle l'EMG de surface (sEMG). Cette dernière présente trois applications majeures dans les sciences du sport en constituant un indicateur de 1) l'analyse des patterns moteurs, 2) la relation entre le signal sEMG mesuré et la force produite par le muscle squelettique et enfin il peut aussi être

utilisé comme 3) un index de la cinétique du développement de la fatigue musculaire au cours d'un exercice (Luca, 1997). Au cours d'une contraction musculaire, le signal recueilli au niveau de l'électrode par la sEMG correspond à la somme des potentiels d'actions des UMs (PAUMs) recrutées par le SNC (Fuglevand et al., 1992). Par conséquent, l'amplitude du signal sEMG est associée au niveau de recrutement des UMs : plus les UMs sont recrutées et plus l'amplitude du signal sera importante (Farina et al., 2014). Cependant, la détection par les électrodes sEMG dépend de nombreux paramètres dont la localisation des électrodes, la localisation de la fibre par rapport aux électrodes et la fréquence de décharge des UMs (Konrad, 2005) (Figure 23).

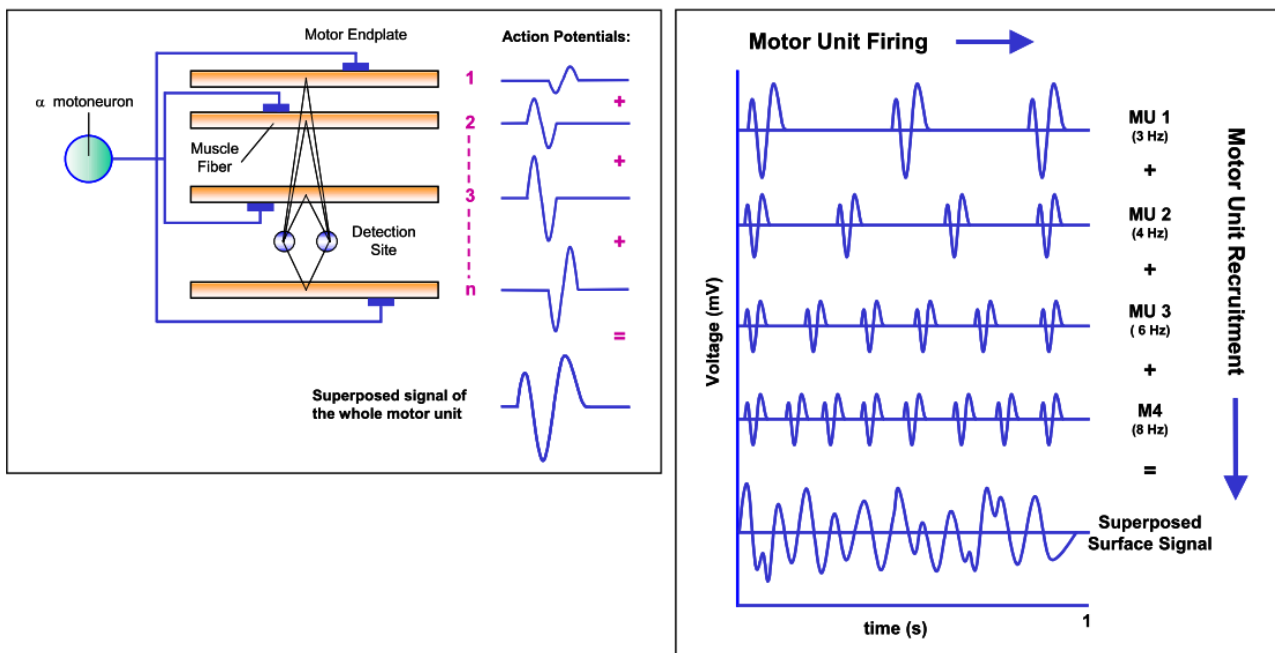


Figure 23 : Effet de la localisation de l'électrode (gauche) et de la fréquence de décharge (droite) sur le signal sEMG obtenu au cours d'une contraction musculaire (Extrait de Konrad, 2005).

Ainsi, il est donc possible que les PAUMS mesurés s'annulent, phénomène appelé « opposition de phase » (Figure 23) qui a deux conséquences majeures sur le signal sEMG mesuré. Une première conséquence est que l'annulation des PAUMs entre eux limite l'augmentation de l'amplitude sEMG. Bien qu'il existe une relation importante entre amplitude du signal et recrutement musculaire, la mesure par sEMG sous-estime généralement le niveau de recrutement musculaire (Day & Hulliger, 2001; Heckman & Enoka, 2012). La seconde conséquence est que le signal brut obtenu n'est pas reproductible entre des contractions identiques. Ainsi, bien que le recueil du signal par sEMG soit simple, ces deux limitations rendent l'analyse et l'interprétation des données plus difficile (Dimitrova & Dimitrov, 2003; Farina, 2006). Dans le but d'analyser et d'interpréter les données obtenues, deux types d'analyses sont généralement mis en place : une analyse temporelle, associée au niveau de recrutement musculaire, et une analyse fréquentielle, associée à la fréquence de décharges de UMs et à des paramètres impliqués dans la fatigue musculaire.

a- Analyse temporelle

L'objectif de l'analyse temporelle du signal sEMG est de limiter le phénomène d'opposition de phases dans le but d'extraire des informations sur l'amplitude du signal et donc, par extension, sur le recrutement des UMs au cours de la contraction. La première étape de traitement du signal peut être de calculer la valeur redressée, *i.e.* la transformation des valeurs négatives en valeurs positives, permettant à la fois une meilleure lisibilité du signal ainsi que la

mesure des premiers paramètres liées à l'amplitude du signal (Konrad, 2005) (valeurs pics et moyennes). Plusieurs autres traitements du signal peuvent être envisagées dont la transformation Root Mean Square du signal sEMG (RMS) (Figure 24). La RMS est une transformation très utilisée dans le traitement sEMG car elle représente la puissance efficace du signal et elle est caractérisée par une sensibilité et une fiabilité élevées (Kollmitzer et al., 1999; Burden et al., 2014). De manière générale, deux valeurs de ce signal peuvent être utilisées dans le but de mesurer son amplitude : la valeur moyenne et la valeur pic. Le choix entre ces deux valeurs est à la discrétion de chaque utilisateur cependant il est possible qu'une valeur convienne mieux que l'autre en fonction de la situation. Par exemple, la valeur moyenne est très peu dépendante de la fenêtre de calcul utilisée (Burden et al., 2014) et elle est donc caractérisée par une reproductibilité importante. Ainsi, elle semble convenir à une comparaison de l'évolution de l'amplitude du signal au cours d'un exercice où un mouvement répété de cyclisme par exemple.

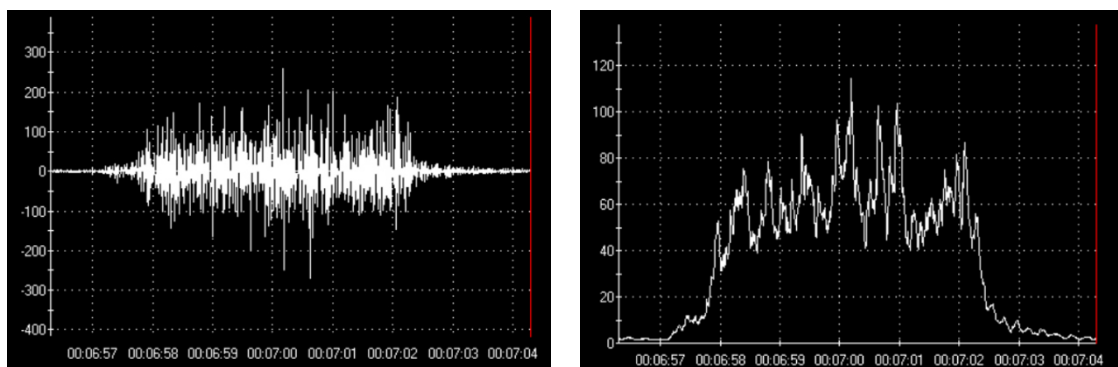


Figure 24 : Signal sEMG brut (gauche) puis après traitement RMS (droite) obtenu lors d'une contraction volontaire isométrique maximale du quadriceps (données personnelles).

Les valeurs RMS absolues qui sont obtenues sont spécifiques d'un individu car elles dépendent de facteurs multiples comme l'impédance de la peau ou la quantité de tissu adipeux au niveau cutané. Ainsi, il est nécessaire de normaliser ces valeurs par une valeur de référence pour pouvoir comparer les individus entre eux. Une référence communément utilisée est la valeur obtenue au cours d'une CVIM correspondant au recrutement maximal des UMs par le SNC, permettant ainsi d'exprimer les valeurs RMS mesurées en pourcentage du recrutement maximal. Cependant, bien que la relation entre la force produite par le muscle et les valeurs RMS normalisées soit quasi-linéaire dans des contractions isométriques, les conditions de contractions peuvent influencer de façon importante la valeur RMS (Figure 25). Par conséquent, dans certaines conditions, il convient de choisir de façon appropriée la mesure de la valeur de référence pour que celle-ci soit représentative des conditions expérimentales.

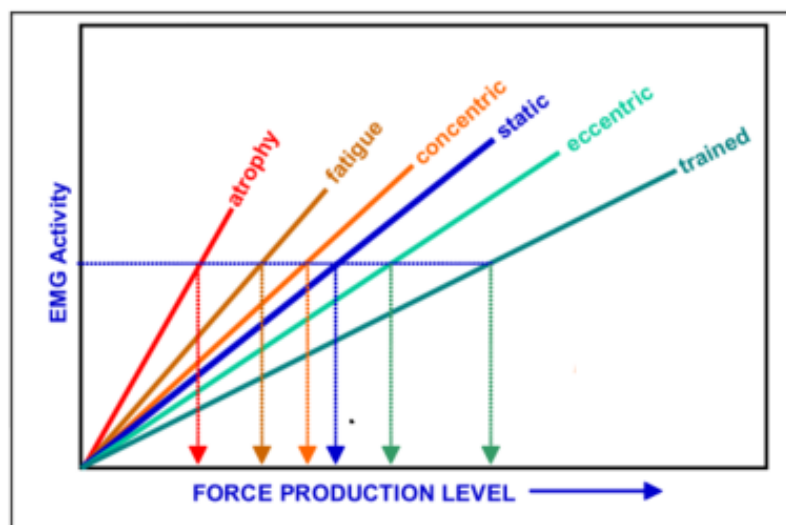


Figure 25 : Relation entre la force produite et l'activité sEMG en fonction des conditions de contraction (Extrait de Konrad, 2005).

b- Utilisation de l'analyse temporelle dans l'étude de la fatigue musculaire

La valeur RMS constitue un indicateur fiable du recrutement musculaire au cours d'une contraction et son évolution permet ainsi d'évaluer les modifications de recrutement musculaire durant un exercice. Comme décrit précédemment, l'apparition de la fatigue musculaire peut s'accompagner d'une modification du recrutement des UMs qui va donc pouvoir être mesurée par l'évolution de la RMS au cours de l'exercice. Ainsi, une diminution de la RMS est associée à une baisse du recrutement des UMs à la suite d'un exercice alors qu'à l'inverse, son augmentation indique un recrutement plus important par le SNC. Cependant, il est nécessaire d'interpréter ces modifications en relation avec les modifications mécaniques induites par l'exercice afin d'avoir une compréhension globale de l'impact de la modification du recrutement des UMs sur la production de force. Ainsi, au cours d'un exercice maximal, la baisse de la valeur RMS associée à une diminution de la force et/ou puissance produite indiquerait l'apparition des mécanismes centraux de la fatigue musculaire (Babault et al., 2006; Bigland-Ritchie et al., 1983; Morel et al., 2015a). Physiologiquement, cela indiqueraient que l'influx nerveux et le recrutement des UMs diminuent au cours de l'exercice provoquant la baisse de la force produite (Gandevia, 2001). A l'inverse, une augmentation de la RMS observée au cours d'une contraction sous maximale associée à un maintien, ou une réduction de la force et/ou puissance produite serait plutôt associée à des mécanismes périphériques de la fatigue (Amann & Calbet, 2008; Hautier et al., 2000). Par exemple, au cours d'une contraction maximale, cela signifie que le muscle squelettique n'est plus en capacité de produire de la force malgré un influx nerveux maximal. De plus, cette augmentation de la RMS associée à une diminution ou un maintien de la force peut également indiquer une élévation de l'influx nerveux

en direction du muscle dans le but de maintenir et/ou de limiter les impacts de la fatigue musculaire sur la contractilité (Amann & Calbet, 2008).

c- Analyse fréquentielle

En plus de l'analyse temporelle, il est également possible d'étudier le spectre de fréquence du signal sEMG ainsi que la puissance associée. Cette analyse se base sur le principe de la transformée de Fourier : le signal sEMG peut être décomposé en sinusoides ayant chacune une fréquence d'oscillation spécifique et la fréquence regroupant un nombre de sinusoides va donc être associée à une puissance importante. Par exemple, si un signal est majoritairement composé de sinusoides ayant une fréquence de 80 Hz alors il présentera une puissance importante à cette fréquence. Il est possible d'extraire plusieurs paramètres du spectre de puissance (Figure 26) dont la median power frequency (MDF), *i.e.* la valeur séparant le signal en deux parties de puissance égale, dont les variations à l'exercice peuvent être utilisées pour étudier l'apparition de la fatigue musculaire. En effet, contrairement à l'amplitude du signal qui est reliée étroitement au niveau de recrutement des UMs, le contenu fréquentiel ainsi que les valeurs associées sont influencés par plusieurs paramètres dont la modification de la vitesse de conduction des fibres (Lowery et al., 2002; Masuda et al., 1999), de la fréquence de décharge des UMs (Dimitrova & Dimitrov, 2003) ou encore de la température corporelle (Petrofsky & Lind, 1980). La transformation de Fourier est particulièrement adaptée à des signaux stationnaires, comme ceux obtenus lors de contractions isométriques maintenues, cependant elle l'est beaucoup moins pour des contractions dynamiques, pour lesquelles on

préférera utiliser la transformée en ondelette (Dantas et al., 2010; Graham et al., 2015; Smale et al., 2016).

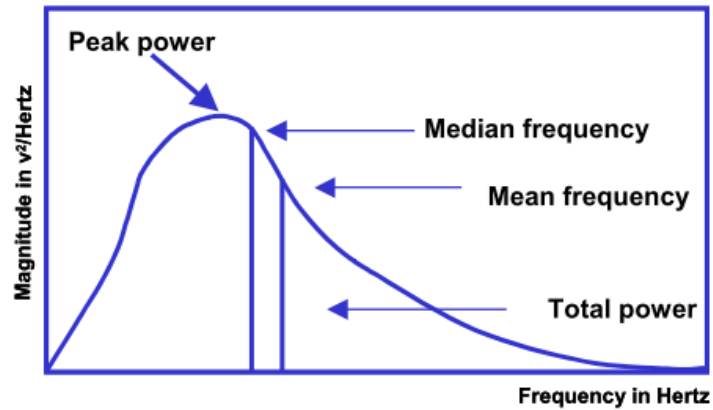


Figure 26 : Schéma du spectre de puissance obtenu à la suite de la transformation de Fourier du signal sEMG (Extrait de Konrad, 2005). Les différentes valeurs d'intérêt pour l'étude de ce spectre sont représentées sur ce schéma.

La transformée en ondelette consiste en l'utilisation d'ondelettes mères dont la durée et l'amplitude vont varier dans le but de suivre de façon précise les variations du signal. Par rapport à la transformée de Fourier, la transformation en ondelette permet d'obtenir un spectre de puissance pour chaque fréquence au cours du temps (Figure 27). Par conséquent, elle constitue un outil puissant dans l'étude de variations du recrutement des UMs au cours de la contraction musculaire.

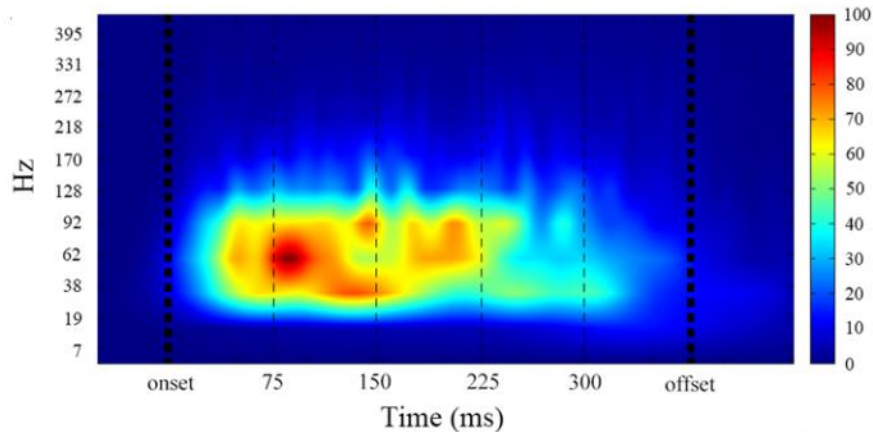


Figure 27 : Spectre de puissance obtenu par une transformée en ondelettes au cours d'une contraction isocinétique maximale (Extrait de Morel et al., 2015b). Les couleurs chaudes représentent une puissance élevée et donc une décharge importante des UMs au cours du temps. A l'inverse, les couleurs froides représentent des puissances faibles.

d- Utilisation de l'analyse fréquentielle dans l'étude de la fatigue musculaire

De manière générale, la fatigue musculaire tend à provoquer un décalage du spectre vers les basses fréquences (Viitasalo & Komi, 1977) entraînant ainsi une diminution des paramètres associés dont la MDF. En effet, il a été démontré que l'apparition d'une fatigue musculaire était associée à une diminution de la MDF mesurée au niveau sEMG (Lowery et al., 2002; Masuda et al., 1999) qui pourrait être expliquée par une diminution de la vitesse de conduction des fibres et de l'excitabilité du sarcolemme (Dimitrova & Dimitrov, 2003), de la fréquence de décharge des UMs (Komi & Tesch, 1979) et/ou la baisse du recrutement d'UMs de haut seuil (Gazzoni et al., 2004). Les modifications de la MDF sont plutôt associées à des mécanismes intramusculaires de la fatigue (Bigland-Ritchie et al., 1981) cependant le spectre obtenu grâce à un traitement en ondelette suggère également que des mécanismes centraux puissent être

impliqués. En effet, Morel *et al* (2015) ont observé des diminutions de la fréquence et de la puissance du spectre temps-fréquence EMG après fatigue dès les premiers millisecondes de la contraction suggérant que des mécanismes spinaux voire supra-spinaux étaient également mis en jeu. Pour autant, la diminution de la fréquence du signal EMG à l'effort est plus souvent associée à l'apparition des mécanismes périphériques de la fatigue musculaire plutôt que centraux. Il faut toutefois rester prudent concernant l'interprétation de l'évolution de ce marqueur au cours de l'exercice car les causes de ces modifications sont multiples.

HYPOTHESE / OBJECTIFS

Il est aujourd'hui clairement établi que le muscle squelettique est profondément altéré dans la drépanocytose à la fois au niveau histologique, métabolique et fonctionnel. Cependant, l'ensemble de ces altérations a été caractérisé à l'état basal chez le patient drépanocytaire et leur impact au cours d'un exercice aigu ne sont pas encore connus. Etant donné l'implication du muscle squelettique dans la capacité fonctionnelle des individus, la caractérisation d'une dysfonction musculaire ainsi que des éventuels mécanismes impliqués est nécessaire chez le patient drépanocytaire. La production transitoire d'EORs au cours de l'exercice est essentielle pour un fonctionnement musculaire normal cependant une production excessive a été montrée comme délétère pour la fonction musculaire. Ainsi, plusieurs études récentes ont émis l'hypothèse qu'un stress oxydatif élevé pourrait expliquer les altérations musculaires observées dans la drépanocytose. Les effets bénéfiques de l'exercice chronique aérobie sur le stress oxydatif systémique et sur le muscle squelettique sont bien démontrés dans des populations saines et pathologiques. Cependant, les effets de ce type d'exercice sur le stress oxydatif dans le muscle squelettique drépanocytaire ne sont pas encore connus.

Ce travail de thèse s'est articulé autour de deux hypothèses : 1) les altérations musculaires pourraient se traduire par l'apparition d'une fatigue musculaire précoce au cours de l'exercice chez les patients drépanocytaires ; 2) l'exercice chronique aérobie aurait un effet bénéfique sur la balance pro/antioxydante en limitant le stress oxydatif dans le muscle squelettique.

Les objectifs principaux étaient donc d'étudier les modifications de la fonction musculaire, notamment la fatigabilité musculaire et ses déterminants, au cours d'un exercice

physique chez le patient drépanocytaire et de caractériser les effets d'un exercice chronique aérobie sur le stress oxydatif musculaire, un acteur majeur de la physiopathologie drépanocytaire.

Pour répondre à ces objectifs, deux études menées chez le patient drépanocytaire et la souris Townes, respectivement, seront présentées. Dans une première étude, nous nous sommes intéressés aux modifications de la fonction musculaire induites par un exercice mono-articulaire sous-maximal chez des patients drépanocytaires S/S et S/C. Dans le but de caractériser ces modifications, le recrutement musculaire au cours de l'exercice ainsi que l'oxygénation musculaire ont été mesurés par sEMG et spectroscopie proche infrarouge (SPIR) respectivement. De plus, dans le but d'étudier une éventuelle implication du muscle squelettique dans la réduction de la capacité fonctionnelle, nous avons réalisé ces mesures avant et après un T6M. Dans une seconde étude, nous nous sommes intéressés aux effets d'un exercice chronique aérobie sur la balance pro/antioxydante du muscle squelettique de souris drépanocytaire Townes, un modèle murin sévère de la pathologie. Lors de ce protocole, ces souris ont effectué un entraînement aérobie modéré de 8 semaines sur tapis roulant puis des marqueurs pro- et anti-oxydants ont été mesurés dans le *gastrocnemius*, le *plantaris* et le *soleus*.

CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE

PERSONNELLE

**Etude 1 : Impact d'un exercice mono-articulaire sous-maximal
sur la fatigabilité du muscle squelettique des patients
drépanocytaires S/S et S/C**

Gouraud E. Connes P‡, Gauthier-Vasserot A‡, Faes C, Merazga S, Poutrel S, Renoux C, Boisson C,
Joly P, Bertrand Y, Hot A, Cannas G*, Hautier C*.

Soumis dans *European Journal of Applied Physiology*

Les nombreuses études menées chez le patient drépanocytaire S/S ont montré des altérations profondes du muscle squelettique à l'état basal, notamment un remodelage de la microcirculation sanguine et une diminution de l'activité des enzymes du métabolisme aérobie. Ces deux modifications suggèrent que l'apport et l'utilisation de l'O₂ par le muscle squelettique au cours de l'exercice sont altérés et donc que ce dernier utiliserait préférentiellement le métabolisme anaérobie pour produire de l'ATP. Les faibles puissances atteintes à SV1 par les patients drépanocytaires ainsi que l'acidose intramusculaire marquée observée chez la souris Townes renforce cette hypothèse (Chatel et al. 2017b ; Gellen et al., 2018). Comme évoqué dans cette revue de littérature, le métabolisme anaérobie est associé à une accumulation de métabolites qui participent activement à l'apparition de la fatigue musculaire. Ainsi, il est possible que ces altérations soient responsables d'une fatigabilité musculaire accrue chez les patients drépanocytaires comme cela a été démontré chez la souris drépanocytaire Townes (Chatel et al., 2017a). Bien que le muscle squelettique des patients S/S ait été étudié ces dernières années, il n'existe pas ou peu de données sur le muscle squelettique des patients S/C. Les récentes études menées chez ces patients ont montré qu'ils étaient caractérisés par une anémie moins marquée, des CVOs moins fréquentes et une espérance de vie plus longue que les patients S/S (Elmariah et al., 2014; Lionnet et al., 2012; Möckesch al., 2017a) suggérant qu'ils seraient moins impactés par la pathologie. De plus, les altérations cardio-vasculaires à l'exercice sont moins marquées (Oyono-Enguélé et al., 2000) ce qui pourraient expliquer la capacité fonctionnelle plus importante des patients S/C par rapport aux patients S/S (Waltz et al., 2013b). Ainsi, il est possible que les altérations musculaires puissent être moins importantes et/ou différentes chez les patients S/C par rapport aux patients S/S. La caractérisation de ces

altérations à l'exercice constitue donc un prérequis à la poursuite de travaux portant sur le muscle squelettique, de son implication dans la réduction de la capacité à l'exercice et aux effets d'un exercice chronique sur celui-ci. Ainsi, l'objectif de cette première étude était de décrire l'impact d'un exercice mono-articulaire sous-maximal et d'un T6M sur la fonction musculaire squelettique des patients drépanocytaires S/S et S/C. L'objectif secondaire était de mettre en évidence d'éventuels mécanismes pouvant expliquer ces altérations à la fois au niveau neuromusculaire et de l'oxygénation musculaire.

Pour répondre à cette objectif, une étude clinique transversale prévoyant une inclusion de 20 sujets sains A/A, 30 patients S/S et 30 patients S/C a démarré en septembre 2017 pour se terminer en décembre 2019. À la suite de ces 2 ans d'inclusions, 19 sujets sains AA, 28 patients S/S et 18 patients S/C ont été inclus dans cette étude clinique menée aux Hospices civils de Lyon et composée d'une visite unique au cours de laquelle les mesures ont été effectuées. Plus précisément, les patients ont effectué un exercice mono-articulaire sous-maximal du quadriceps à une intensité relative correspondant à 25% de leur force maximale isométrique (Fmax). Fmax a été mesurée avant et après cet exercice mono-articulaire, au cours de contraction volontaire isométrique maximale (CVIM), et la perte de Fmax a été utilisée pour quantifier la fatigabilité musculaire. À la suite d'un repos de 10 minutes, les sujets ont effectué un T6M suivi d'une seconde mesure de Fmax pour évaluer la fatigue musculaire induite par ce test. Au cours du protocole, les activités sEMG du *Vastus Lateralis* (VL) et du *Vastus Medialis* (VM) ont été mesurées afin d'étudier les modifications neuro-musculaires induites par l'exercice. De plus, l'oxygénation musculaire par spectroscopie proche infrarouge (SPIR) du VL a été mesurée au

cours de l'exercice mono-articulaire dans le but de mettre en évidence d'éventuelles modifications à l'exercice chez les patients drépanocytaires.

European Journal of Applied Physiology
Impact of a submaximal mono-articular exercise on the skeletal muscle function of
patients with sickle cell disease.
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Impact of a submaximal mono-articular exercise on the skeletal muscle function of patients with sickle cell disease.
Article Type:	Original Article
Keywords:	skeletal muscle fatigue; electromyography; functional capacity; hemoglobin disorder
Corresponding Author:	Christophe Hautier, Ph.D CRIS Université de LYON, LYON 1 VILLEURBANNE, FRANCE
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	CRIS Université de LYON, LYON 1
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Christophe Hautier, Ph.D
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Christophe Hautier, Ph.D Etienne Gouraud Philippe Connes Alexandra Gauthier-Vasserot Camille Faes Salima Merazga Solène Poutrel Céline Renoux Camille Boisson Philippe Joly Yves Bertrand Arnaud Hot Giovanna Cannas
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	<p>Purpose: Sickle cell disease (SCD) patients exhibit a limited exercise tolerance commonly attributed to anaemia, as well as hemorheological and cardio-respiratory abnormalities, but the role of peripheral factors (i.e., skeletal muscle function) remains unclear. Moreover, the effect of SCD genotype on exercise tolerance and skeletal muscle function has been poorly investigated. The aim of this study was to investigate skeletal muscle function during a submaximal exercise in SCD patients.</p> <p>Methods: Nineteen healthy individuals (AA), 28 patients with sickle cell anaemia (SS) and 18 with sickle-cell hemoglobin C disease (SC) performed repeated knee extensions exercise (FAT). Maximal isometric torque (Tmax) was measured before and after the FAT to quantify muscle fatigability. Electromyographic activity and oxygenation by near infrared spectroscopy of the Vastus Lateralis were recorded.</p> <p>Results: FAT caused a reduction in Tmax in SS (-17.0±12.1%, p < 0.001) and SC (-</p>

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

1 **Impact of a submaximal mono-articular exercise on the skeletal muscle**
2 **function of patients with sickle cell disease.**

3

4 Etienne Gouraud^{1,2}, Philippe Connes^{1,2,3§}, Alexandra Gauthier-Vasserot^{1,2,4,5§}, Camille Faes^{1,2‡}, Salima
5 Merazga⁵, Solène Poutrel^{5,6}, Céline Renoux^{1,2,7}, Camille Boisson^{1,2}, Philippe Joly^{1,2,7}, Yves Bertrand^{4,5},
6 Arnaud Hot^{5,6}, Giovanna Cannas^{1,2,5,6*}, Christophe Hautier^{1,2*}

7 ¹Inter-university Laboratory of Human Movement Sciences (LIBM) EA7424, Team “Vascular
8 Biology and Red Blood Cell”, University Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

9 ²Laboratory of Excellence “GR-Ex”, Paris, France

10 ³Institute of Universities of France, Paris, France.

11 ⁴Hematology and Oncology Pediatric unit, University Hospital of Lyon, Lyon, France

12 ⁵Reference centre in Sickle cell disease, Thalassemia and rare red blood cell and erythropoiesis
13 diseases, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

14 ⁶ Internal Medicine department, Edouard-Herriot Hospital, Lyon, France

15 ⁷Laboratory of Biochemistry of Erythrocyte Pathologies, Biology Centre East, Bron, France.

16 [§] equivalent position

17 [‡] deceased

18 * co-last authors

19 **Keywords:** skeletal muscle fatigue; electromyography; functional capacity; hemoglobin disorder

20 **Correspondance** : Christophe Hautier, PhD, Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité
21 (LIBM) EA7424, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France. Phone: 04 72 43 28 48. E-
22 mail: christophe.hautier@univ-lyon1.fr.

23

24

25

26

27

28

29

30 **Abbreviations**

- 31 6-MWT: 6-minute walk test
32 AA: Healthy subjects
33 ACS: Acute chest syndrome
34 BP: Blood pressure
35 EMG: Electromyography
36 FAT: Fatigability test
37 GPAQ: Global Physical Activity Questionnaire
38 HbC: Haemoglobin C
39 HbS: Haemoglobin S
40 HR: Heart rate
41 iMVC: Isometric maximal voluntary contraction
42 MPF: Median power frequency
43 NIRS: Near infrared spectroscopy
44 RBC: Red blood cell
45 RMS: Root Mean Square
46 RMSmax: Maximal root mean square value
47 RPE: Perceived exertion
48 SC: sickle cell-haemoglobin C disease
49 SCD: Sickle cell disease
50 SpO₂: Transcutaneous oxygen saturation
51 SS: Sickle cell anaemia
52 Tmax: Maximal isometric torque
53 TSI: Tissue saturation index
54 VL: *Vastus Lateralis*
55 VOC: Vaso-occlusive crisis
56
57
58
59

60 **Abstract**

61 **Purpose:** Sickle cell disease (SCD) patients exhibit a limited exercise tolerance commonly attributed to
62 anaemia, as well as hemorheological and cardio-respiratory abnormalities, but the role of peripheral
63 factors (i.e., skeletal muscle function) remains unclear. Moreover, the effect of SCD genotype on
64 exercise tolerance and skeletal muscle function has been poorly investigated. The aim of this study was
65 to investigate skeletal muscle function during a submaximal exercise in SCD patients.

66 **Methods:** Nineteen healthy individuals (AA), 28 patients with sickle cell anaemia (SS) and 18 with
67 sickle-cell hemoglobin C disease (SC) performed repeated knee extensions exercise (FAT). Maximal
68 isometric torque (Tmax) was measured before and after the FAT to quantify muscle fatigability.
69 Electromyographic activity and oxygenation by near infrared spectroscopy of the *Vastus Lateralis* were
70 recorded.

71 **Results:** FAT caused a reduction in Tmax in SS (-17.0±12.1%, $p < 0.001$) and SC (-21.5±14.5%, $p <$
72 0.05) but not in AA (+0.58±29.9%). Root mean squared value of EMG signal (RMS) decreased only in
73 SS after FAT while the median power frequency (MPF) was unchanged in all groups. Oxygenation
74 kinetics were determined in SS and AA and were not different.

75 **Conclusion:** These results show skeletal muscle dysfunction during exercise in SCD patients, with
76 different etiology between SS and SC. The changes in EMG signal and oxygenation kinetics during
77 exercise suggest that the greater skeletal muscle fatigue occurring in SCD patients would be rather due
78 to intramuscular alterations and neural drive modifications than decreased tissue oxygenation.
79 Moreover, SS patients exhibit greater muscle fatigability than SC.

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89 **Introduction**

90 Sickle cell disease (SCD) is a group of haemoglobin disorders sharing a nucleotide mutation in the β -
91 globin gene, such as homozygous sickle cell anaemia (SS) and sickle cell-haemoglobin C disease (SC),
92 with various clinical severities (Dalibalta et al. 2010). Red blood cells (RBCs) from SS patients contain
93 around 80-90% of the abnormal haemoglobin S (HbS), while RBCs from SC patients contain about 45%
94 of HbS and 45% of haemoglobin C (HbC). When deoxygenated, HbS polymerizes, which causes a
95 mechanical distortion of RBCs into a crescent-like shape (i.e., sickling) (Kato et al. 2018). These sickled
96 RBCs are very fragile and rigid, which may lead to chronic haemolytic anaemia and frequent painful
97 vaso-occlusive crises (Kato et al. 2018). As a result, SS patients are characterized by severe multi-
98 organic complications leading to a reduced life expectancy (Elmariah et al. 2014). In SC patients, the
99 presence of HbC into RBCs has been shown to promote cellular dehydration through the activation of
100 the KCl cotransporter (Hannemann et al. 2015), hence facilitating HbS polymerization under
101 deoxygenation (Nagel et al. 2003). These two SCD genotypes may experience the same kind of clinical
102 complications, however, anaemia is milder, frequency of vaso-occlusive like complication is lower and
103 life expectancy is higher in SC than in SS patients (Lionnet et al. 2012; Elmariah et al. 2014).

104
105 SCD patients have a poor physical fitness and limited exercise tolerance (Connes et al. 2011; Waltz et
106 al. 2013b,a) but it seems that physical functional capacity would be more reduced in SS than in SC
107 patients (Waltz et al. 2013b). Chronic anaemia, as well as hemorheological and cardiorespiratory
108 abnormalities, have been shown to contribute to the exercise intolerance reported in SS patients (Waltz
109 et al. 2013a; van Beers et al. 2014). The implication of skeletal muscle in the limitation of exercise
110 tolerance is well described in various chronic diseases (Arena et al. 2014; Nyberg et al. 2016; Rovedder
111 et al. 2019), but not in SCD. Recently, few studies characterized skeletal muscle in SS patients.
112 Ravelojaona *et al* (2015) performed skeletal muscle biopsies in SS individuals and showed
113 microvascular remodelling, amyotrophy, and decreased oxidative capacity. Moreover, SCD patients
114 exhibit reduced forearm maximal isometric strength (Waltz et al. 2012; Dougherty et al. 2018;
115 Gonçalves et al. 2019) compared to their healthy counterparts (AA). These modifications suggest that
116 the skeletal muscle could be impacted by the disease in SCD and may contribute to the limited exercise
117 tolerance. However, neither skeletal muscle function, nor the effect of SCD genotype (i.e., SS vs SC) on
118 this function, has been investigated during exercise.

119
120 Skeletal muscle fatigue is defined as any exercise-induced reduction in the ability of a muscle to generate
121 force or power (Gandevia 2001). Potent causes may involve psychological factors, such as perceived
122 exertion, as well as exercise-induced modifications at spinal and supraspinal level, and/or at skeletal
123 muscle level (Gandevia 2001; Allen et al. 2008). These alterations may result in a decreased neural drive

124 to the skeletal muscle (Gandevia 2001) and/or an alteration of excitation-contraction coupling (Allen et
125 al. 2008) decreasing skeletal muscle capacity to generate strength.

126

127 The aim of this study was to describe the modifications of skeletal muscle function induced by a
128 submaximal mono-articular exercise of the knee extensors among SS and SC patients and to compare
129 with AA individuals. The second aim was to explore the possible causes of the skeletal muscle
130 dysfunction in SCD patients using electromyography (EMG) and near infrared spectroscopy (NIRS).
131 We hypothesized that both SS and SC patients would exhibit exercise-induced skeletal muscle
132 dysfunction and higher muscle fatigability than AA individuals.

133

134

135 **Materials and Methods**

136 *Study design and patients*

137 Nineteen African AA subjects, 28 SS and 18 SC patients were recruited to participate in this study. SCD
138 patients were randomly selected among patients in a clinical steady state (*i.e.*, no acute vaso-occlusive
139 crises, acute chest syndrome or hospitalization within the last 2 months, and no blood transfusion within
140 the last 3 months) and followed by the Internal Medicine department, for adults, and the Haematology
141 and Oncology Paediatric unit, for adolescents, in the University Hospital of Lyon (Hospices Civils de
142 Lyon, Lyon, France). Exclusion criteria included: positive history of stroke or cerebral vasculopathy,
143 pulmonary hypertension, leg ulcers, osteonecrosis of the femoral head, and current pregnancy. The study
144 was approved by the French Ethics Committee (CPP Est IV, Strasbourg, France, Clinical trial number:
145 NCT03243812) and all experiments were performed in accordance with the guidelines set by the
146 Declaration of Helsinki. All subjects were volunteers, aware of the aims of the study, and signed written
147 informed consent (with parents for patients under 18 years old).

148

149 *Experimental design*

150 Venous blood was drawn into EDTA tubes to determine haematological parameters. Clinical severity
151 was characterized by the number of hospitalized vaso-occlusive crisis (VOC) and acute chest syndrome
152 (ACS) within the last 5 years. VOC was defined as a painful episode lasting more than 4 hours with
153 typical pain for vaso-occlusion and resulting in an admission to the emergency department with no other
154 aetiology identified (Lamarre et al. 2012). ACS was defined as the appearance of a new infiltrate on
155 chest X-ray, associated with chest pain, respiratory distress, fever or cough (Lamarre et al. 2012).
156 Transcutaneous oxygen saturation (SpO₂), heart rate (HR), and blood pressure (BP) were measured at

157 rest. Anthropometric and adipose thickness measurements were performed according to the international
158 standards for anthropometric assessments in order to determine thigh volume (Jones and Pearson 1969).
159 Physical activity level of the subjects was quantified with the Global Physical Activity Questionnaire
160 (GPAQ) (Cleland et al. 2014). After a standardized warm-up, participants performed a fatigability test
161 (FAT) of the knee extensors. Following a recovery period, they performed a 6-minute walk test (6-
162 MWT).

163

164 *Fatigability test (FAT)*

165 Study procedure is summarized in figure 1. Participants were seated in a chair with their hip joint angle
166 set at 80°. A custom-made apparatus was used to perform full knee extension, from 90° to 0° knee joint
167 angle (0° = full knee extension) with a resistance set by weights. All participants performed a warm-up
168 consisting of two bouts of 10 full knee extensions with weights of 2 and 4 kg, respectively, separated by
169 a 2-minute rest. After this warm-up, they performed three isometric maximal voluntary contraction
170 (iMVC) to determine maximal isometric torque (Tmax0) of the quadriceps of the dominant leg,
171 separated by a 2-minute recovery to avoid any skeletal muscle fatigue (Petersen et al. 2003). They were
172 asked to “push as hard and as fast as possible” and strong verbal encouragement were provided to ensure
173 production of their maximal torque. Tmax0 was measured with a strength dynamometer (DFS II,
174 Chatillon Force Measurement, AMETEK STC, USA) at a 90° knee joint angle. Then, the participants
175 performed FAT consisting in 4 bouts of 20 repeated full knee extension of the dominant leg with weights
176 corresponding to 25% of Tmax0, separated by a 1-minute recovery period. The rhythm of contraction
177 and relaxation periods was imposed by a metronome and the investigator giving the order to “contract”
178 and “relax”. The intensity of exercise was set at 25% of Tmax0 to lower blood flow limitations (Sjøgaard
179 et al. 1988; Wigmore et al. 2004) and homeostasis disturbances in order to avoid the occurrence of vaso-
180 occlusive crisis. Indeed, blood flow limitations and homeostasis disturbances associated with high
181 intensity skeletal muscle contraction are able to trigger painful vaso-occlusive crisis in sickle cell disease
182 patients (Connes et al. 2011). Perceived exertion (RPE) was assessed after each bout of FAT using Borg
183 scale (Borg 1974). Immediately after FAT, maximal isometric torque (Tmax1) was measured again.
184 EMG activity and skeletal muscle oxygenation, by near infrared spectroscopy (NIRS), of the *Vastus*
185 *Lateralis* (VL) were measured during both iMVC and FAT.

186

187 *6-minute walk test (6-MWT)*

188 The self-paced 6-MWT was conducted according to the guidelines set by the American Thoracic Society
189 (ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories 2002).
190 Briefly, participants were instructed to perform the greatest distance in 6 minutes *i.e.* walking as fast as
191 they can without running. The 6-MWT is particularly relevant since it has been widely used to determine
192 functional status of SCD patients (Machado et al. 2005; Anthi et al. 2007) and it reflects daily-life

193 activities (Enright 2003). Predicted distance was calculated based on the equation of Burr *et al* (Burr et
194 al. 2011) and Geiger *et al* (Geiger et al. 2007) for adults and adolescents, respectively.

195

196 *Electromyography*

197 EMG of the VL was recorded using surface electrodes (EMG Triode, nickel-plated brass, electrode
198 diameter = 1 cm, inter-electrode distance = 2 cm, Thought Technology, Montreal, QC, Canada). EMG
199 signal was sampled at 2048 Hz using the Flexcomp Infiniti system (Thought Technology, Montreal,
200 Canada). Before placing the electrodes, the skin was shaved, if needed, and cleaned with alcohol to
201 improve the contact between the skin and the electrode and reduce skin impedance. Electrodes were
202 placed on the VL belly according to the SENIAM guidelines (Hermens et al. 2000). Before analysis,
203 raw EMG signals were filtered (Butterworth order 2, band pass from 10 to 500 Hz) and amplified with
204 a gain of 500. Mean root mean squared (RMS) values were calculated with a 125 ms sliding window
205 (Origin 2017, OriginLab, Northampton, MA, USA). Mean RMS value was measured during the plateau
206 phase of the signal during iMVC. Each knee extension of FAT was detected thanks to a threshold set at
207 5% of maximal RMS value, determining the onset and offset of the contraction. Then, mean RMS value
208 was calculated and normalized by the maximal RMS value (RMSmax) determined during the iMVC.
209 Morlet wavelet transformation was used to determine time-frequency EMG parameters and calculate a
210 median power frequency (MPF) over the contraction (MATLAB scripts, Mathworks, Natick, MA,
211 USA). Modifications of RMS/RMSmax ratio and MPF during exercise were used to characterize
212 skeletal muscle fatigue (Dantas et al. 2010; Amann et al. 2013; Blain et al. 2016).

213

214 *Near Infrared Spectroscopy (NIRS)*

215 Skeletal muscle oxygenation was measured during FAT via a portable 2-wavelength continuous wave
216 NIRS apparatus (Portamon, Artinis Medical, Zetten, Netherlands). The probe was attached on the VL
217 muscle belly with tape and covered with a black cotton tissue to reduce exposure to extraneous light.
218 Changes in tissue oxyhaemoglobin and deoxyhaemoglobin were sampled with two optodes interspaced
219 by 4.5 cm at a frequency of 10 Hz. Tissue saturation index (TSI) was then calculated as
220 $([\text{oxyhaemoglobin}]/([\text{oxyhaemoglobin}]+[\text{deoxyhaemoglobin}])) \times 100$ to characterize skeletal muscle
221 oxygenation status. The use of TSI was chosen because it reflects the balance between O₂ supply and
222 O₂ consumption (Grassi and Quaresima 2016) especially in situations where blood flow is not constant
223 like during mono-articular exercise because of the skeletal muscle pump effect (Wolf et al. 2007;
224 Brocherie et al. 2015). For sickle cell patients, the presence of HbS seems not to affect the measurement
225 of TSI as both haemoglobin A and S possess similar near-infrared spectra absorbance (Nahavandi et al.
226 2009). Because skin colour has been suggested to possibly affect NIRS signal, we used the Fitzpatrick
227 scale to estimate the level of skin darkness in every subject (Trakatelli et al. 2017). All subjects
228 regardless of the groups were categorized between IV and V on the Fitzpatrick scale, indicating that

7

229 differences between groups could not be explained by skin colour. Unfortunately, we found that adipose
230 thickness was higher than expected in SC patients and we were not able to perform skeletal muscle
231 oxygenation measurement in this group.(Grassi and Quaresima 2016) Therefore, measurements were
232 performed only in AA and SS groups.

233 *Statistical analysis*

234 All data were expressed as mean \pm SD. The normality was checked with a D'Agostino-Pearson's test.
235 Comparison of data between the three groups were performed by a one-way ANOVA, followed by
236 Bonferroni post hoc test or Kruskal-Wallis test, followed by Dunn post hoc test, depending on the
237 normality of data. The effects of the FAT on torque and EMG were investigated, and compared between
238 the 3 groups, by using a two-way ANOVA with repeated measurements followed by Bonferroni multiple
239 comparisons. Finally, a Spearman correlation was performed to test the association between several
240 parameters. The significance level was set at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using
241 GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

242

243 **Results**

244 *General characteristics*

245 The anthropometrics, physiological, and haematological characteristics of the three groups are
246 summarized in Table 1. Diastolic blood pressure was significantly lower in both SS and SC than in AA
247 ($p < 0.001$ and $p < 0.05$, respectively). Leucocytes count was significantly increased in SS compared to
248 AA ($p < 0.05$). Daily physical activity was not significantly different between the three groups. Both
249 haematocrit and haemoglobin values were significantly different between the three groups: AA > SC >
250 SS. Skeletal muscle TSI was significantly lower at rest in SS compared to AA.

251

252 *Maximal isometric torque and 6-MWT performance are decreased in SCD patients*

253 Absolute Tmax0 was significantly lower in SCD patients compared to AA ($p < 0.001$) (Fig. 2A).
254 However, when normalized by the thigh volume, Tmax0 was not different between the three groups
255 (Fig. 2B). Absolute distance walked during 6-MWT was significantly lower for SCD patients compared
256 to AA ($p < 0.01$ for SS, $p < 0.001$ for SC) (Fig. 2C). When expressed in percentage of the predicted
257 distance, the 6-MWT performance was only lower in SS compared to AA counterparts ($p < 0.05$) (Fig.
258 2D).

259

260 *Skeletal muscle fatigability is increased in SS and SC compared to AA, and, of different 261 aetiology*

262 FAT caused a reduction of the maximal isometric torque (*i.e.*, Tmax0 vs Tmax1) in both SS ($p < 0.001$)
263 and SC ($p < 0.05$) but not in AA (Fig. 3A). The analysis of EMG activity showed that RMS value during

264 the iMVC was reduced after FAT in SS patients ($p < 0.05$) but not in the other groups (Fig. 3B). MPF
265 during the iMVC remained unchanged after FAT in the three groups (Fig. 3C).

266 To further investigate skeletal muscle function during FAT, we studied the modification of EMG
267 markers between the 4 bouts of FAT and between every contraction of each bout. The RMS/RMSmax
268 ratio and MPF values were not different between the three groups and between the four bouts of FAT
269 whatever the group considered (data not shown).

270 However, the analysis of the EMG signal between every contraction of each bout showed that
271 RMS/RMSmax ratio increased over the repeated contractions of each of the 4 bouts of the FAT in SS
272 and in 3 of 4 bouts in SC (Fig. S1A). Of note, the increase in RMS/RMSmax within each bout occurred
273 earlier in SS than in SC. The MPF value decreased with the repetition of contractions within each bout
274 for all groups (Fig. S1B). Finally, RPE significantly increased over the bouts for the three groups and
275 we observed an interaction effect (genotype \times RPE) with higher RPE in SS compared to AA in the third
276 (13.8 vs 16.6, $p < 0.01$) and fourth (14.4 vs 17.8, $p < 0.001$) bout of FAT.

277

278 *Skeletal muscle oxygenation during submaximal exercise is not different between SS and AA*

279 We did not find any differences in muscle oxygenation kinetics during FAT (Fig. S1C) between AA and
280 SS. Also, no correlation between the percentage of decrease in TSI during FAT and torque reduction
281 induced by FAT were observed in SS patients ($r = 0.21$, $p > 0.05$).

282

283 *Increased skeletal muscle fatigability is not related to anaemia or clinical severity in SCD*

284 To study the relationship between anaemia and skeletal muscle fatigability in SCD patients, we
285 correlated the percentage of relative torque reduction induced by FAT and haematocrit/haemoglobin
286 and found no correlation between these parameters for both SS ($r = 0.15$, $p > 0.05$; $r = -0.07$, $p > 0.05$,
287 for haematocrit and haemoglobin, respectively) and SC ($r = -0.51$, $p > 0.05$; $r = -0.32$, $p > 0.05$, for
288 haematocrit and haemoglobin, respectively) patients. Also, when the groups were pooled together, we
289 did not find any correlation between percentage of relative torque decrease and haematocrit or
290 haemoglobin ($r = 0.17$, $p > 0.05$; $r = 0.14$, $p > 0.05$, for haematocrit and haemoglobin, respectively).

291 Finally, we analysed the relationship between skeletal muscle fatigability and the clinical severity in
292 SCD patients and found no correlation between the percentage torque reduction and the rate of vaso-
293 occlusive like events. Of note, no adverse effects were observed during and after the study.

294

295 **Discussion**

296 The aim of this study was to describe skeletal muscle function alterations in SS and SC in response to a
297 submaximal mono-articular exercise of the knee extensors and to explore its possible causes. Our main
298 results showed that 1) SCD patients exhibited greater skeletal muscle fatigue, *i.e.* greater maximal torque
299 decrease, 2) FAT induced a reduction in neural drive during the maximal contractions in SS but not in

300 AA and SC subjects suggesting higher sensitivity to skeletal muscle perturbations and 3) the greater
301 fatigability observed in SCD patients is not related to anaemia or clinical severity.

302

303 Both the absolute and predicted 6-MWT distance performed during the test was lower in SCD patients
304 compared to AA showing a reduced functional capacity as previously described (Machado et al. 2005;
305 Anthi et al. 2007; Waltz et al. 2013a; Hostyn et al. 2013). Interestingly, we did not find any difference
306 in the 6-MWT performance between SS and SC suggesting a similar functional capacity between the
307 two SCD phenotypes. Absolute T_{max} was also reduced in SCD patients compared to AA suggesting a
308 decreased capacity of quadriceps to generate torque, as it was previously shown in forearm muscles of
309 SS patients (Waltz et al. 2012; Dougherty et al. 2018; Gonçalves et al. 2019). However, T_{max} was not
310 different between groups when normalized by the thigh volume suggesting that the skeletal muscle
311 amyotrophy may explain the lower torque (Ravelojaona et al. 2015) rather than a dysfunction in
312 excitation-contraction coupling.

313

314 Following FAT, T_{max} was reduced in SCD patients showing a greater skeletal muscle fatigability
315 compared to healthy individuals. The decrease of RMS value between the iMVC pre- and post-FAT
316 suggests a reduction in the neural drive to the VL muscle in SS patients (Gandevia 2001; Babault et al.
317 2006). An alteration of sarcolemma excitability may partly explain this decrease, but this is not
318 supported by the lack of change in MPF and the EMG modifications observed within the bouts (Chisari
319 et al. 1998). Although the decrease of T_{max} after FAT was not different between SS and SC patients (-
320 17.0 ± 12.1 % vs -21.5 ± 14.5 %), iMVC RMS value decreased in SS only, suggesting an increased
321 sensitivity to peripheral modifications in SS compared to SC individuals (Hureau et al. 2018; Morel et
322 al. 2019), which may result in a higher inhibition of neural drive.

323 In order to further elucidate the possible mechanisms leading to these modifications, we studied the
324 evolution of EMG parameters during FAT. We observed that RMS value increased over repetition inside
325 each bout for both SS and SC suggesting an increase of muscle activation in order to recruit more fibres
326 to compensate for the decrease in muscle fibres contractility (Gandevia 2001; Blain et al. 2016). This
327 hypothesis is supported by the decrease in MPF observed inside each bout of FAT, as this type of pattern
328 has been frequently associated with muscle fatigue (Babault et al. 2006; Dantas et al. 2010).

329 Both SS and SC patients experienced peripheral muscle fatigue during the repeated submaximal
330 contractions. However, the muscle perturbations induced by FAT seemed to trigger inhibitory feedbacks
331 driven by III/IV afferences to the central nervous system only in SS patients. These inhibitory feedbacks
332 could explain the reduction in maximal neural drive (Amann et al. 2013; Blain et al. 2016) during the
333 iMVC post-FAT in this population. The increase in RPE observed in SS tends to support this hypothesis
334 as it was shown that III/IV afferences discharge is associated with increased perceived exertion
335 (Berchicci et al. 2013). In SC patients, the changes in RMS and MPF during bouts of the FAT
336 demonstrate the appearance of skeletal muscle fatigue but with a slower development velocity compared

10

337 to SS patients as shown by the kinetic of modifications of EMG parameters. Altogether, these results
338 suggest some differences in skeletal muscle fatigue induced by repeated submaximal contractions
339 between SS and SC patients. While skeletal muscle fatigue developed rapidly in SS patients, SC patients
340 were more resistant to fatigue with less modifications in EMG parameters. As the decrease in torque is
341 similar between the two phenotypes, it seems that skeletal muscle fatigue may be related to
342 intramuscular alterations in SC patients with less neural drive modifications. In contrast, decreased
343 neural drive would be involved in the higher muscle fatigability found in SS patients. One may speculate
344 that the homeostasis of the skeletal muscle of SS patients would be more altered than in SC patients
345 inducing higher neural drive inhibitions and/or SS patients are more sensitive to these local
346 perturbations. For ethical reasons, the use of magnetic and/or electrical stimulation was not possible in
347 this study as this may force the fragile subjects to override the physiological protection mechanisms and
348 may trigger VOC. Thus, the exact nature of these differences is currently unknown. Further studies are
349 needed to better decipher the mechanisms at the origin of the increased muscle fatigability in SS and SC
350 patients.

351

352 While TSI at rest was lower in SS compared to AA, as previously described (Waltz et al. 2012), we did
353 not find any difference in oxygenation kinetics between SS and AA during FAT. Also, we did not
354 observe any correlation between skeletal muscle deoxygenation during FAT and torque reduction in SS
355 patients. Therefore, it seems that the differences in muscle fatigability and EMG signal between these
356 two groups could not be the consequence of muscle oxygenation differences. Moreover, the lack of
357 correlations between haematocrit or haemoglobin and percentage of Tmax decrease in SCD patients
358 suggest that the level of anaemia is not the main factor explaining the difference in fatigability between
359 populations. Also, the absence of correlation between torque reduction and the rate of vaso-occlusive
360 like events may indicate that clinical severity could also not explain these differences. It seems that
361 skeletal muscle dysfunction is a general characteristic of SCD rather than a marker of clinical severity.

362

363 **Conclusion**

364 In conclusion, our results show that SS and SC patients exhibit an exercise-induced skeletal muscle
365 dysfunction which could contribute to the limited exercise tolerance classically observed in SCD. Hence,
366 skeletal muscle may be considered as a potent therapeutic target during rehabilitation protocol in order
367 to improve functional capacity in SCD patients. Further studies should be conducted to characterize the
368 effects of chronic exercise, especially resistance training, on the skeletal muscle function, *i.e.* maximal
369 strength and fatigability, of SCD patients. Furthermore, it seems that the aetiology of skeletal muscle
370 fatigue is slightly different between these two forms of SCD probably due to an increased sensitivity to
371 skeletal muscle perturbations in SS compared to SC patients. Consequently, a better understanding of

372 the mechanisms responsible for these differences is needed in order to improve therapeutic care of SCD
373 patients.

374

375 **Contributions**

376 Study Design: PC, GC and CH. Acquisition of data: EG and SM. Analysis and interpretation of data:
377 EG, PC, CF and CH. Drafting of the manuscript: EG, PC, CF and CH. Critical revision of the
378 manuscript: AGV, SP, CR, CB, PJ, YB, AH and GC.

379 **Declaration of interests**

380 The authors have no competing interests, including specific financial interests, relationships, and/or
381 affiliations relevant to the subject matter or materials included in this manuscript.

382 **Acknowledgments**

383 We thank Johan Cassirame, from Mtraining, for technical support on near infrared spectroscopy.

384

385 **References**

386 Allen DG, Lamb GD, Westerblad H (2008) Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev*
387 88:287–332. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2007>

388 Amann M, Venturelli M, Ives SJ, et al (2013) Peripheral fatigue limits endurance exercise via a
389 sensory feedback-mediated reduction in spinal motoneuronal output. *J Appl Physiol* 115:355–
390 364. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00049.2013>

391 Anthi A, Machado RF, Jison ML, et al (2007) Hemodynamic and Functional Assessment of Patients
392 with Sickle Cell Disease and Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 175:1272–
393 1279. <https://doi.org/10.1164/rccm.200610-1498OC>

394 Arena R, Cahalin LP, Borghi-Silva A, Phillips SA (2014) Improving functional capacity in heart
395 failure: the need for a multifaceted approach. *Curr Opin Cardiol* 29:467–474.
396 <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000092>

397 ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories (2002) ATS
398 statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 166:111–117.
399 <https://doi.org/10.1164/ajrccm.166.1.at1102>

400 Babault N, Desbrosses K, Fabre M-S, et al (2006) Neuromuscular fatigue development during
401 maximal concentric and isometric knee extensions. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985
402 100:780–785. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00737.2005>

403 Berchicci M, Menotti F, Macaluso A, Di Russo F (2013) The neurophysiology of central and
404 peripheral fatigue during sub-maximal lower limb isometric contractions. *Front Hum Neurosci*
405 7: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00135>

406 Blain GM, Mangum TS, Sidhu SK, et al (2016) Group III/IV muscle afferents limit the intramuscular
407 metabolic perturbation during whole body exercise in humans. *J Physiol* 594:5303–5315.
408 <https://doi.org/10.1113/JP272283>

12

- 409 Borg GA (1974) Perceived exertion. *Exerc Sport Sci Rev* 2:131–153
- 410 Brocherie F, Millet GP, Girard O (2015) Neuro-mechanical and metabolic adjustments to the repeated
411 anaerobic sprint test in professional football players. *Eur J Appl Physiol* 115:891–903.
412 <https://doi.org/10.1007/s00421-014-3070-z>
- 413 Burr JF, Bredin SSD, Faktor MD, Warburton DER (2011) The 6-minute walk test as a predictor of
414 objectively measured aerobic fitness in healthy working-aged adults. *Phys Sportsmed* 39:133–
415 139. <https://doi.org/10.3810/psm.2011.05.1904>
- 416 Chisari C, D'Alessandro C, Manca ML, Rossi B (1998) Sarcolemmal excitability in myotonic
417 dystrophy: Assessment through surface EMG. *Muscle Nerve* 21:543–546.
418 [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4598\(199804\)21:4<543::AID-MUS17>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4598(199804)21:4<543::AID-MUS17>3.0.CO;2-Y)
- 419 Cleland CL, Hunter RF, Kee F, et al (2014) Validity of the global physical activity questionnaire
420 (GPAQ) in assessing levels and change in moderate-vigorous physical activity and sedentary
421 behaviour. *BMC Public Health* 14:1255. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-1255>
- 422 Connes P, Machado R, Hue O, Reid H (2011) Exercise limitation, exercise testing and exercise
423 recommendations in sickle cell anemia. *Clin Hemorheol Microcirc* 49:151–163.
424 <https://doi.org/10.3233/CH-2011-1465>
- 425 Dalibalta S, Ellory JC, Browning JA, et al (2010) Novel permeability characteristics of red blood cells
426 from sickle cell patients heterozygous for HbS and HbC (HbSC genotype). *Blood Cells Mol*
427 *Dis* 45:46–52. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2010.02.010>
- 428 Dantas JL, Camata TV, Brunetto MAC, et al (2010) Fourier and wavelet spectral analysis of EMG
429 signals in isometric and dynamic maximal effort exercise. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng*
430 *Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf* 2010:5979–5982.
431 <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2010.5627579>
- 432 Dougherty KA, Bertolaso C, Schall JI, et al (2018) Muscle Strength, Power, and Torque Deficits in
433 Children With Type SS Sickle Cell Disease. *J Pediatr Hematol Oncol*.
434 <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000001143>
- 435 Elmariah H, Garrett ME, De Castro LM, et al (2014) Factors associated with survival in a
436 contemporary adult sickle cell disease cohort. *Am J Hematol* 89:530–535.
437 <https://doi.org/10.1002/ajh.23683>
- 438 Enright PL (2003) The Six-Minute Walk Test. *Respir Care* 48:783–785
- 439 Gandeia SC (2001) Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev* 81:1725–
440 1789. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1725>
- 441 Geiger R, Strasak A, Treml B, et al (2007) Six-minute walk test in children and adolescents. *J Pediatr*
442 150:395–399, 399.e1–2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.12.052>
- 443 Gonçalves CEA, Silva PO, Soares MS, et al (2019) Muscle dysfunction is associated with poorer
444 health-related quality of life in adults with sickle cell anaemia. *J Back Musculoskelet Rehabil*
445 32:43–53. <https://doi.org/10.3233/BMR-171027>
- 446 Grassi B, Quaresima V (2016) Near-infrared spectroscopy and skeletal muscle oxidative function in
447 vivo in health and disease: a review from an exercise physiology perspective. *J Biomed Opt*
448 21:091313. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.9.091313>

- 449 Hannemann A, Rees DC, Tewari S, Gibson JS (2015) Cation Homeostasis in Red Cells From Patients
450 With Sickle Cell Disease Heterologous for HbS and HbC (HbSC Genotype). *EBioMedicine*
451 2:1669–1676. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.09.026>
- 452 Hermens HJ, Freriks B, Disselhorst-Klug C, Rau G (2000) Development of recommendations for
453 SEMG sensors and sensor placement procedures. *J Electromyogr Kinesiol Off J Int Soc*
454 *Electrophysiol Kinesiol* 10:361–374
- 455 Hostyn SV, Carvalho WB de, Johnston C, Braga JAP (2013) Evaluation of functional capacity for
456 exercise in children and adolescents with sickle-cell disease through the six-minute walk test.
457 *J Pediatr (Rio J)* 89:588–594. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2013.04.005>
- 458 Hureau TJ, Romer LM, Amann M (2018) The ‘sensory tolerance limit’: A hypothetical construct
459 determining exercise performance? *Eur J Sport Sci* 18:13–24.
460 <https://doi.org/10.1080/17461391.2016.1252428>
- 461 Jones PR, Pearson J (1969) Anthropometric determination of leg fat and muscle plus bone volumes in
462 young male and female adults. *J Physiol* 204:63P-66P
- 463 Kato GJ, Piel FB, Reid CD, et al (2018) Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Primer* 4:18010.
464 <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>
- 465 Lamarre Y, Romana M, Waltz X, et al (2012) Hemorheological risk factors of acute chest syndrome
466 and painful vaso-occlusive crisis in children with sickle cell disease. *Haematologica* 97:1641–
467 1647. <https://doi.org/10.3324/haematol.2012.066670>
- 468 Lionnet F, Hammoudi N, Stojanovic KS, et al (2012) Hemoglobin sickle cell disease complications: a
469 clinical study of 179 cases. *Haematologica* 97:1136–1141.
470 <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.055202>
- 471 Machado RF, Martyr S, Kato GJ, et al (2005) Sildenafil therapy in patients with sickle cell disease and
472 pulmonary hypertension. *Br J Haematol* 130:445–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05625.x>
- 474 Morel B, Lapole T, Liotard C, Hautier C (2019) Critical Peripheral Fatigue Thresholds Among
475 Different Force-Velocity Conditions: An Individual-Based Model Approach. *Front Physiol*
476 10:875. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00875>
- 477 Nagel RL, Fabry ME, Steinberg MH (2003) The paradox of hemoglobin SC disease. *Blood Rev*
478 17:167–178. [https://doi.org/10.1016/s0268-960x\(03\)00003-1](https://doi.org/10.1016/s0268-960x(03)00003-1)
- 479 Nahavandi M, Nichols JP, Hassan M, et al (2009) Near-infrared spectra absorbance of blood from
480 sickle cell patients and normal individuals. *Hematol Amst Neth* 14:46–48.
481 <https://doi.org/10.1179/102453309X385133>
- 482 Nyberg A, Tömberg A, Wadell K (2016) Correlation between Limb Muscle Endurance, Strength, and
483 Functional Capacity in People with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Physiother Can*
484 *Physiother Can* 68:46–53. <https://doi.org/10.3138/ptc.2014-93>
- 485 Petersen NT, Taylor JL, Butler JE, Gandevia SC (2003) Depression of Activity in the Corticospinal
486 Pathway during Human Motor Behavior after Strong Voluntary Contractions. *J Neurosci*
487 23:7974–7980. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-22-07974.2003>
- 488 Ravelojaona M, Féasson L, Oyono-Enguélé S, et al (2015) Evidence for a profound remodeling of
489 skeletal muscle and its microvasculature in sickle cell anemia. *Am J Pathol* 185:1448–1456.
490 <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.01.023>

- 491 Rovedder PME, Borba GC, Anderle M, et al (2019) Peripheral muscle strength is associated with lung
 492 function and functional capacity in patients with cystic fibrosis. *Physiother Res Int J Res Clin*
 493 *Phys Ther* 24:e1771. <https://doi.org/10.1002/pri.1771>
- 494 Sjøgaard G, Savard G, Juel C (1988) Muscle blood flow during isometric activity and its relation to
 495 muscle fatigue. *Eur J Appl Physiol* 57:327–335. <https://doi.org/10.1007/BF00635992>
- 496 Trakatelli M, Bylaite-Bucinskiene M, Correia O, et al (2017) Clinical assessment of skin phototypes:
 497 watch your words! *Eur J Dermatol* 27:615–619. <https://doi.org/10.1684/ejd.2017.3129>
- 498 van Beers EJ, van der Plas MN, Nur E, et al (2014) Exercise tolerance, lung function abnormalities,
 499 anemia, and cardiothoracic ratio in sickle cell patients. *Am J Hematol* 89:819–824.
 500 <https://doi.org/10.1002/ajh.23752>
- 501 Waltz X, Pichon A, Lemonne N, et al (2012) Normal muscle oxygen consumption and fatigability in
 502 sickle cell patients despite reduced microvascular oxygenation and hemorheological
 503 abnormalities. *PLoS One* 7:e52471. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052471>
- 504 Waltz X, Romana M, Hardy-Dessources M-D, et al (2013a) Hematological and hemorheological
 505 Determinants of the Six-Minute Walk Test Performance in Children with Sickle Cell Anemia.
 506 *PLoS ONE* 8: . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077830>
- 507 Waltz X, Romana M, Lalanne-Mistrih M-L, et al (2013b) Hematologic and hemorheological
 508 determinants of resting and exercise-induced hemoglobin oxygen desaturation in children with
 509 sickle cell disease. *Haematologica* 98:1039–1044.
 510 <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.083576>
- 511 Wigmore DM, Damon BM, Pober DM, Kent-Braun JA (2004) MRI measures of perfusion-related
 512 changes in human skeletal muscle during progressive contractions. *J Appl Physiol* 97:2385–
 513 2394. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01390.2003>
- 514 Wolf M, Ferrari M, Quaresima V (2007) Progress of near-infrared spectroscopy and topography for
 515 brain and muscle clinical applications. *J Biomed Opt* 12:062104.
 516 <https://doi.org/10.1117/1.2804899>

517

518 **Figures**

519 *Figure 1:* Schematic view of exercise procedure for all subjects. iMVC: isometric maximal voluntary
 520 contraction; FAT: Fatigability test; KE: knee extension; Tmax0: maximal isometric torque measured
 521 before FAT.

522 *Figure 2:* Absolute (A) and normalized (B) maximal isometric torque between all groups. Absolute
 523 distance (C) and percentage of predicted distance walked during 6-minute walk test (D). Data are
 524 presented by Mean ± SD. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$.

525 *Figure 3:* Maximal isometric torque (A), RMS (B) and MPF (C) after FAT for all groups. Data are
 526 presented by Mean ± SD. *: $p < 0.05$; ***: $p < 0.001$. Black bars: pre; white bars: post.

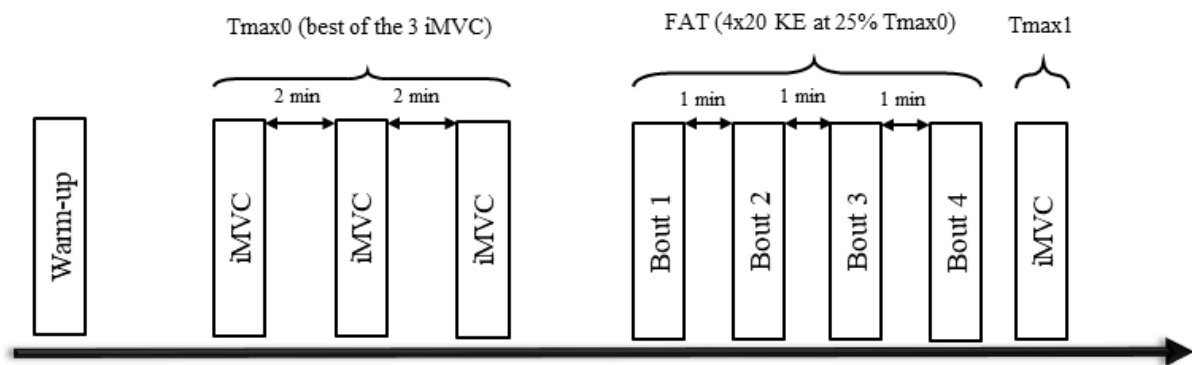
527 *Figure S1A:* RMS/RMSmax within each bout of the FAT for each group. Data are presented by Mean
 528 ± SD. *: $p < 0.05$.

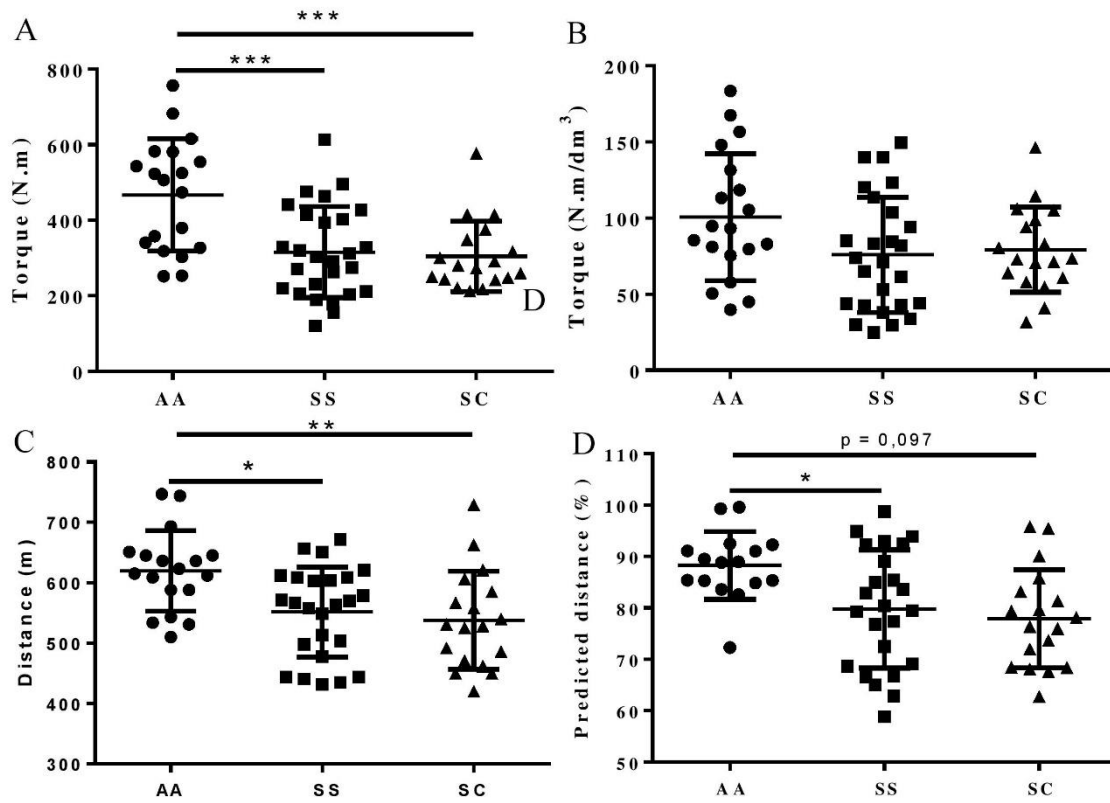
529 *Figure S1B*: MPF within each bout of the FAT for each group. Data are presented by Mean \pm SD. *: p
530 < 0.05 .

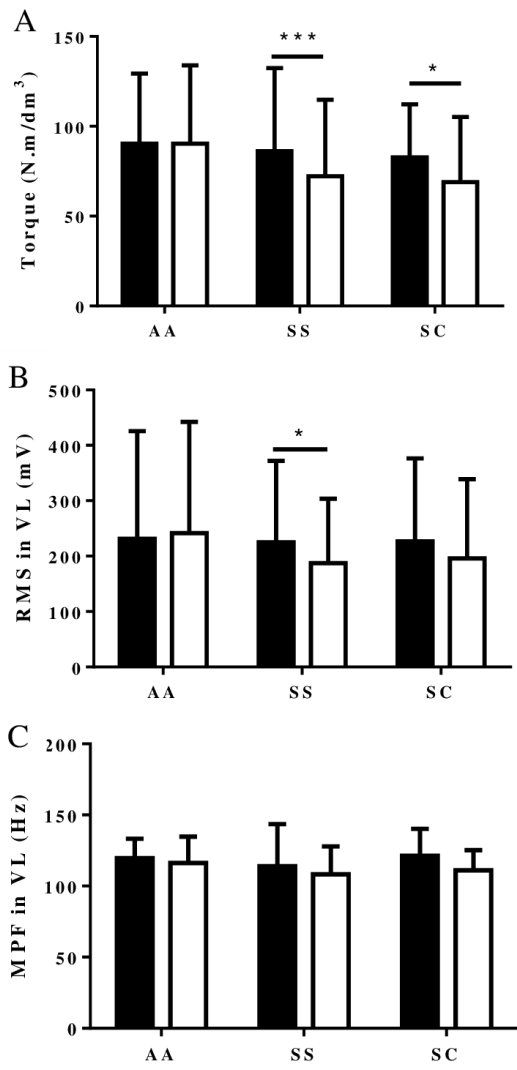
531 *Figure S1C*: Typical trace for TSI obtained during a bout of FAT (A). Δ TSI (B) corresponds to the
532 difference between baseline and mean TSI during the plateau phase. Time of deoxygenation (C) is the
533 time between the beginning of the bout and of the plateau phase

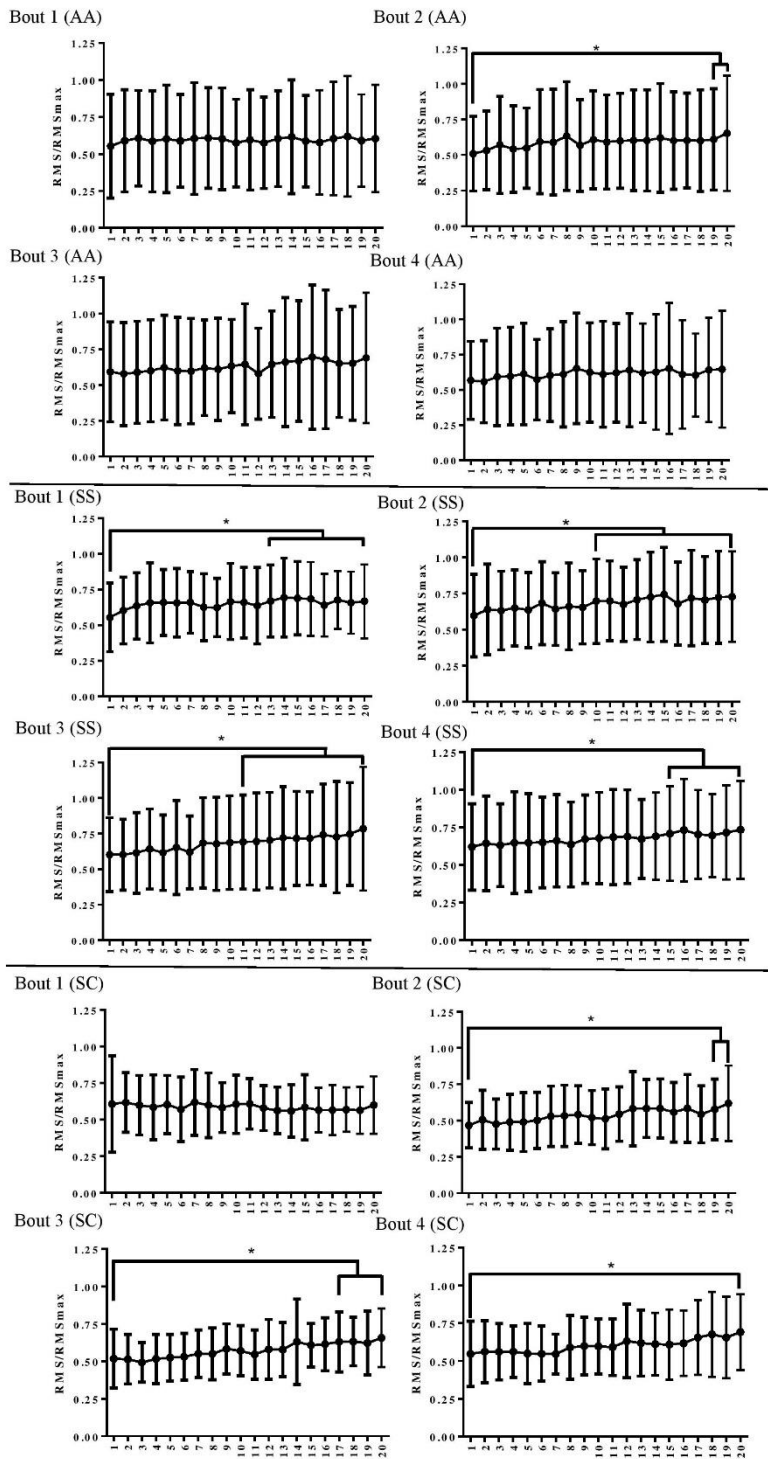
534

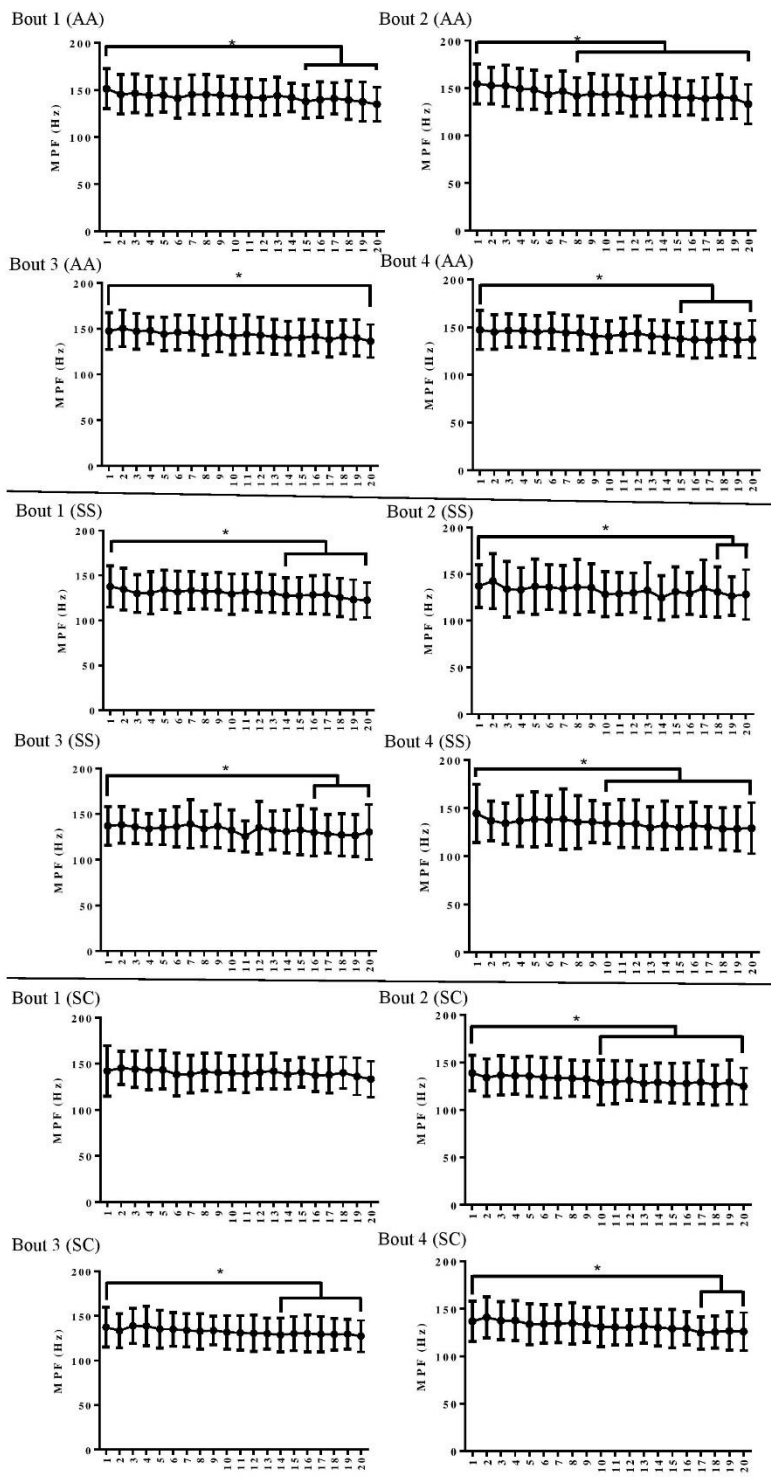
535











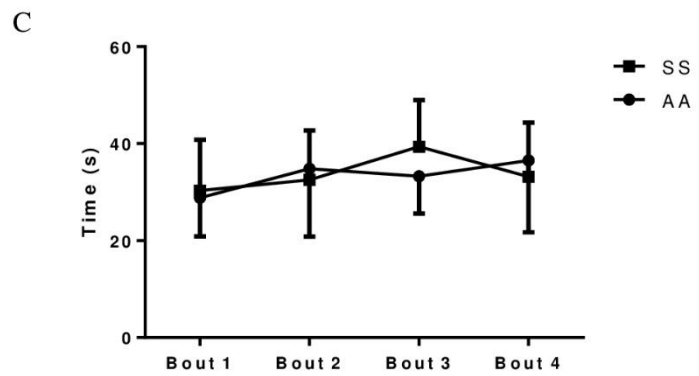
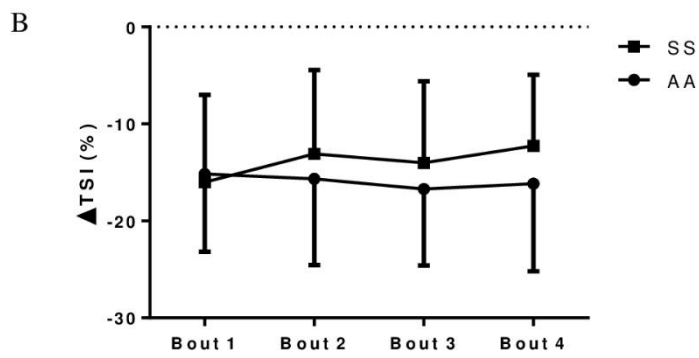
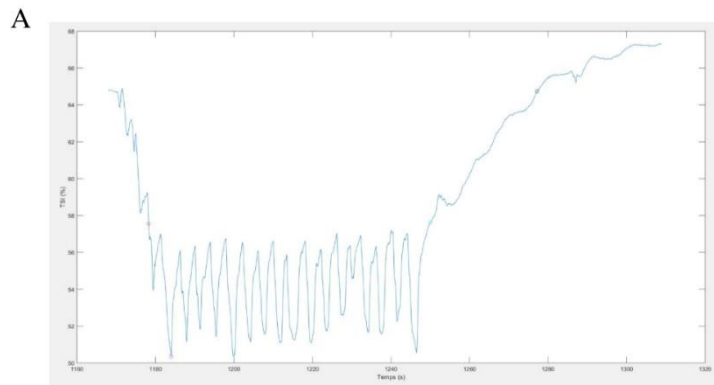


Table 1

	AA	SS	SC
Men	10 (53%)	14 (50%)	6 (33 %)
Women	9 (47%)	14 (50 %)	12 (67 %)
Age (years)	32 ± 9	28 ± 8	27 ± 12
Height (cm)	172 ± 10	171 ± 7	167 ± 8
Weight (kg)	73.1 ± 12.2	63.1 ± 8.8 *	64.1 ± 17.1
Body mass index	24.5 ± 3.3	21.5 ± 2.2 *	22.9 ± 5.6
Heart rate (bpm)	74 ± 12	73 ± 9	77 ± 12
SpO ₂ (%)	97 ± 1	94 ± 3	95 ± 5
Systolic BP (mmHg)	125 ± 13	116 ± 15	120 ± 16
Diastolic BP (mmHg)	86 ± 9	75 ± 9 ***	78 ± 8*
Hematocrit (%)	43.4 ± 4.4	26.3 ± 3.6^s	32.6 ± 3.0[#]
Hemoglobin (g/dL)	14.3 ± 1.4	9.03 ± 1.3^s	11.6 ± 1.1[#]
RBC (10 ¹² /L)	4.95 ± 0.6	3.00 ± 0.7^s	4.44 ± 0.8
Leucocytes (10 ⁹ /L)	5.39 ± 1.7	7.45 ± 2.2*	6.55 ± 2.5
Hydroxyurea (n)		21 (75%)	1 (6%)
VOC (n /5 years)		3.9 ± 3.0	2.5 ± 5.6
ACS (n /5 years)		0.7 ± 0.8	0
Physical activity (Met-min/sem)	3720 ± 5467	4974 ± 5652	2495 ± 3567
TSI (%)	67,8 ± 3,6	63,8 ± 3,8**	

Table 1: Characteristics of subjects. BP: blood pressure. VOC: Vaso-occlusive crisis. ACS: Acute chest syndrome. TSI: Tissue saturation index *: $p < 0.05$ vs AA; **: $p < 0.01$ vs AA; ***: $p < 0.001$ vs AA; #: $p < 0.0001$ vs AA; ^s: $p < 0.0001$ vs AA and SC.

Les patients drépanocytaires S/S et S/C semblent être caractérisés par une dysfonction musculaire marquée par rapport aux sujets A/A. En effet, ils possèdent une Fmax absolue du quadriceps qui est réduite à l'état basal, comme cela a été décrit précédemment au niveau de l'avant-bras (Dougherty et al., 2018; Gonçalves et al., 2019; Waltz et al., 2012b). Cependant, l'absence de différence après normalisation par le volume de la cuisse suggère que cette diminution de Fmax serait expliquée par l'amyotrophie plutôt que par une altération du couplage excitation-contraction. Un des résultats majeurs de cette étude est que le muscle squelettique des patients drépanocytaires présente une fatigabilité accrue par rapport aux sujets sains comme le montre la baisse significative de Fmax à la suite de l'exercice mono-articulaire. Il est à noter que la perte de force est similaire entre les patients S/S et S/C indiquant un même niveau de fatigue musculaire entre les génotypes cependant il semblerait que les mécanismes d'apparition de la fatigue soient différents, comme le montre l'évolution des paramètres sEMG au cours de l'exercice. En effet, la RMS diminue à la fois dans le VL mais également dans le VM des patients S/S indiquant que le recrutement musculaire par le SNC serait diminué lors des CVIMs. A l'inverse, nous n'observons pas de modifications de la RMS et de la MDF chez les S/C et il semblerait donc que la perte de force observée puisse plutôt être liée à des modifications intra-musculaires que par une diminution du recrutement musculaire par le SNC. Ces différences pourraient être expliquées par une sensibilité accrue des patients S/S à la fatigue par rapport aux patients S/C (Morel et al., 2019). En effet, l'évolution de la RMS et de la MDF au sein de l'exercice mono-articulaire indique que les mécanismes de la fatigue musculaire se seraient mis en place plus rapidement au sein du muscle squelettique des patients S/S par rapport aux S/C, activant les fibres afférentes III/IV et limitant l'influx nerveux. A l'inverse,

chez les S/C, ces mécanismes se seraient mis en place de manière plus progressive activant de façon moins importante ces fibres afférentes inhibitrices mais provoquant tout de même une perte de Fmax. Cependant, des travaux supplémentaires sont nécessaires pour caractériser plus précisément ces différences. D'un point de vue de l'oxygénation musculaire, l'absence de différences dans les cinétiques de désoxygénation entre les sujets A/A et S/S indiquent de façon surprenante que ces derniers ne présenteraient pas d'altérations de l'oxygénation musculaire au cours de ce type d'exercice. Par conséquent, la fatigabilité accrue observée chez les patients S/S seraient plutôt causée par des altérations intra-musculaires plutôt qu'à une altération de l'oxygénation au cours de l'exercice. Malheureusement, en raison d'un pourcentage de masse grasse trop important chez les patients S/C, la mesure de l'oxygénation musculaire a été impossible dans cette population (Grassi & Quaresima, 2016).

Comme décrit précédemment, les patients S/S et S/C sont caractérisés par une capacité fonctionnelle réduite comme le montre la distance parcourue au T6M. Afin d'explorer si la fatigabilité musculaire est impliquée dans la réduction de la capacité fonctionnelle, nous avons mesuré la Fmax après le T6M pour quantifier la fatigue musculaire induite par ce test. A la suite du T6M, nous n'observons pas de modifications de la Fmax dans tous les groupes indiquant qu'il n'aurait pas induit de fatigue musculaire. De plus, nous n'observons pas de modifications des paramètres sEMG entre les CVIM au début du protocole et après le T6M confirmant qu'il n'y aurait pas de modifications de la fonction neuro-musculaire. Cependant, au cours du test, la MDF diminuait significativement dans le VL et le VM des patients S/S et S/C indiquant que des mécanismes de la fatigue musculaire ont pu se mettre en place au cours du test. L'apparition de ces mécanismes ne semble toutefois pas suffisante pour induire une perte de Fmax après un

T6M. Ces résultats indiqueraient que la fatigabilité musculaire ne serait pas un facteur majeur dans la performance dans ce type de test ou dans des activités d'intensité faibles qui pourraient avoir lieu dans la vie quotidienne.

Enfin, dans le but d'étudier les relations entre fatigabilité, anémie et sévérite clinique, nous avons effectué des tests de corrélation entre ces différents paramètres et nous n'avons observé aucune corrélation entre la fatigabilité et l'anémie ainsi qu'entre la fatigabilité et la sévérité clinique. Il semblerait donc que la fatigabilité accrue observée chez les patients drépanocytaires S/S et S/C soit liée aux altérations intramusculaires plutôt qu'aux anomalies hématologiques ou au niveau de sévérité clinique des patients.

En conclusion, cette étude montre que les patients drépanocytaires présenteraient une dysfonction musculaire marquée qui se caractérise par une diminution de la capacité de production de force et une fatigabilité accrue. De plus, l'étiologie et la cinétique d'apparition de la fatigue indiqueraient que le muscle squelettique des patients S/S puisse être plus altéré par la pathologie drépanocytaire que celui des patients S/C. La dysfonction musculaire semble être un acteur important dans la limitation de la capacité à l'exercice des patients drépanocytaires S/S et S/C. Ainsi, des études supplémentaires sont nécessaires pour caractériser de façon plus précise son implication dans la réduction de la capacité à l'exercice des patients drépanocytaires. En parallèle, il semble également intéressant d'investiguer les éventuelles différences entre S/S et S/C dans le but d'améliorer les prises en charge cliniques spécifiques aux deux génotypes.

Etude 2 : Effets d'un exercice chronique aérobie modéré sur le stress oxydatif du muscle squelettique de souris drépanocytaires

Townes

Gouraud E, Charrin E, Dubé J.J, Ofori-Acquah S.F, Martin C, Skinner S, Chatel B, Boreau A, Messonnier L, Connes P, Pialoux V, Hautier C, Faes C.

Publié dans *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (2019) :376543 [IF₂₀₁₇=4.936]

Le stress oxydatif est un phénomène qui est fortement impliqué dans la physiopathologie de la drépanocytose notamment au niveau du GR mais également au niveau systémique. Dans le muscle squelettique de manière générale, il a également été démontré qu'un stress oxydatif chronique était un acteur majeur dans l'apparition d'une amyotrophie et des altérations fonctionnelles observées dans plusieurs pathologies chroniques. Bien que la présence d'un stress oxydatif chronique au sein du muscle squelettique drépanocytaire n'ait pas encore été mise en évidence, plusieurs études ont fait l'hypothèse que celui-ci pourrait être impliqué dans les altérations observées au niveau musculaire dans la drépanocytose (Chatel et al., 2017a; Ravelojaona et al., 2015). De plus, il a été démontré que le muscle squelettique est le principal producteur d'EORs impliquées dans l'augmentation du stress oxydatif induite par un exercice aigu (Jackson et al., 2016; Powers & Jackson, 2008). En parallèle, l'exercice chronique aérobie entraîne une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes au sein du muscle squelettique (Laughlin et al., 1990 ; Merry & Ristow, 2016 ; Plant et al., 2003 ; Powers et al., 1994). Par conséquent, l'exercice chronique aérobie constitue une piste thérapeutique intéressante dans le but de limiter le stress oxydatif au niveau du muscle squelettique.

Plusieurs études précédemment menées dans notre laboratoire ont montré qu'une activité physique ou un exercice chronique aérobie avaient un effet bénéfique sur le stress oxydatif dans des modèles de souris drépanocytaires. Une première étude menée chez la souris SAD a montré que l'activité physique spontanée diminuait le stress oxydatif cardiaque (Charrin et al., 2015). Ensuite, une seconde étude a montré qu'un exercice chronique aérobie d'intensité modérée permettait également d'atténuer le stress oxydatif cardiaque et hépatique chez des

souris Townes (Charrin et al., 2017). Ainsi, dans la lignée de ces travaux, le but de cette étude a été de caractériser les effets d'un exercice chronique aérobie d'intensité modérée sur la balance pro/antioxydante du muscle squelettique de souris drépanocytaires Townes.

Au cours de cette étude, des souris Townes A/A et S/S ont suivi un exercice chronique aérobie de 8 semaines à une intensité fixée à 60% de leur VO₂max, dont les effets bénéfiques sur le stress oxydatif ont été démontrés dans d'autres organes (Charrin et al., 2017). A l'issue des 8 semaines, la mesure de marqueurs permettant de caractériser la balance pro/antioxydante a été effectuée dans trois muscles : le *gastrocnemius*, le *plantaris* et le *soleus*. Ces trois muscles ont été choisis particulièrement pour leur typologie (Bloemberg & Quadrilatero, 2012) ainsi que leur implication dans la locomotion (Prilutsky et al., 1996).

Research Article

Effects of Individualized Treadmill Endurance Training on Oxidative Stress in Skeletal Muscles of Transgenic Sickle Mice

Etienne Gouraud,^{1,2} Emmanuelle Charrin,^{1,2,3} John J. Dubé,^{4,5} Solomon F. Ofori-Acquah,^{3,6} Cyril Martin ^{1,2}, Sarah Skinner,^{1,2} Benjamin Chatel,⁷ Anaelle Boreau,^{1,2} Laurent A. Messonnier,⁷ Philippe Connes ^{1,2,8}, Vincent Pialoux ^{1,2,8}, Christophe Hautier,¹ and Camille Faes ^{1,2}

¹Interuniversity Laboratory of Human Movement Biology EA7424, Vascular Biology and Red Blood Cell Team, University Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France

²Laboratory of Excellence "GR-Ex", Paris, France

³Division of Hematology/Oncology, Department of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15261, USA

⁴Division of Endocrinology and Metabolism, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15261, USA

⁵Department of Biology, Chatham University, Pittsburgh, PA 15232, USA

⁶Center for Translational and International Hematology, Vascular Medicine Institute, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15261, USA

⁷Interuniversity Laboratory of Human Movement Biology EA7424, Vascular Biology and Red Blood Cell Team, University Savoie Mont Blanc, Chambéry, France

⁸Institut Universitaire de France, Paris, France

Correspondence should be addressed to Camille Faes; camille.faes@univ-lyon1.fr

Received 28 November 2018; Revised 1 March 2019; Accepted 23 June 2019; Published 24 July 2019

Academic Editor: Cristina Angeloni

Copyright © 2019 Etienne Gouraud et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Oxidative stress is a key feature in the pathophysiology of sickle cell disease. Endurance training has been shown to reduce oxidative stress in the heart and the liver of sickle mice. However, the effects of endurance training on skeletal muscles, which are major producers of reactive oxygen species during exercise, are currently unknown. The aim of this study was to evaluate the effect of sickle genotype on prooxidant/antioxidant response to individualized endurance training in skeletal muscles of sickle mice. Healthy and homozygous Townes sickle mice were divided into trained or sedentary groups. Maximal aerobic speed and $\dot{V}O_2$ peak were determined using an incremental test on a treadmill. Trained mice ran at 40% to 60% of maximal aerobic speed, 1 h/day, 5 days/week for 8 weeks. Oxidative stress markers, prooxidant/antioxidant response, and citrate synthase enzyme activities were assessed in the *gastrocnemius*, in the *plantaris*, and in the *soleus* muscles. Maximal aerobic speed and $\dot{V}O_2$ peak were significantly reduced in sickle compared to healthy mice (-57% and -17%; $p < 0.001$). NADPH oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities significantly increased after training in the *gastrocnemius* of sickle mice only. A similar trend was observed for citrate synthase activity in sickle mice ($p = 0.06$). In this study, we showed an adaptive response to individualized endurance training on the prooxidant/antioxidant balance in the *gastrocnemius*, but neither in the *plantaris* nor in the *soleus* of trained sickle mice, suggesting an effect of sickle genotype on skeletal muscle response to endurance treadmill training.

1. Introduction

Sickle cell disease (SCD) is a genetic disorder characterized by hemolytic anemia and vasoocclusive crises [1] resulting in an enhanced production of reactive oxygen species (ROS) [2, 3]. In this context, higher levels of markers of oxidative stress have been found in the plasma and RBC of patients with SCD [4], as well as in the liver, kidney, and spleen of transgenic sickle mice [5].

Little research has been conducted to understand the pathophysiology of skeletal muscles in SCD, but recently, several studies started to report functional and histological alterations in skeletal muscle [6–9]. In SCD patients at rest, Ravelojaona et al. [8] observed skeletal muscle microvasculature remodeling, amyotrophy, and decreased activity of key enzymes involved in energy metabolism, including creatine kinase (CK), which could be explained by an excessive ROS content in the skeletal muscle of SCD patients [10]. Additionally, recent studies suggest that increased oxidative stress may impair force production in transgenic sickle mice during acute exercise [6] which could be attributed to the increased intramyocellular acidosis [11, 12] observed in these mice [7]. However, while it is well recognized that skeletal muscle is the major endogenous source of ROS during exercise [13, 14], little research has been done to investigate oxidative stress production in the skeletal muscle of homozygous SCD patients or mice.

While vigorous physical activity is usually not recommended for SCD patients [15], recently, a randomized controlled trial reported that an individualized and standardized moderate-intensity training program in sickle patients was clinically safe and improved the functional capacity and the skeletal muscle characteristics of those patients [16]. Besides, chronic exercise in two transgenic sickle mice models [17, 18] was reported to decrease oxidative stress and inflammation in several organs. In SAD mice, voluntary wheel running protocol decreased lipid peroxidation in the heart after hypoxia/reoxygenation stress [17]. In Townes mice, an endurance treadmill running protocol decreased oxidative stress in the heart and the liver and attenuated systemic inflammation [18]. However, Chatel et al. [19] reported that such training did not induce muscular oxidative stress in Townes mice. Nevertheless, the running speed was not individualized for each mouse that may explain the lack of significant changes in Chatel et al.'s study. From a clinical point of view, the individualization of the exercise in sickle cell disease patients is of primary importance in the training management of these patients.

Thus, we chose to investigate the effects of 8-week individualized moderate-intensity treadmill training program on the oxidative stress levels in the skeletal muscle of healthy and transgenic Townes sickle mice. The main hypothesis of our work is that sickle genotype affects the prooxidant/antioxidant response in the skeletal muscle of Townes mice subjected to such endurance training program. We chose the *gastrocnemius*, the *plantaris*, and the *soleus* in this study for their specific typology and involvement in treadmill locomotion.

2. Material and Methods

2.1. Mice. The study was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) at the University of Pittsburgh (protocol #13102567). Eight-week-old male Townes mice were used in this study. Townes mice were obtained by establishing a colony using breeding pairs purchased from Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Mice were provided with food and water ad libitum and maintained on a 12-hour light-dark cycle.

2.2. Incremental Treadmill Test. Healthy AA ($n = 12$) and sickle SS ($n = 17$) mice were progressively acclimatized to treadmill exposure by increasing intensity and duration for 3 days. For the incremental test, mice ran on an enclosed, single lane treadmill (molecular enclosed metabolic treadmill for mice; Columbus Instruments), and real-time measurements of oxygen consumption ($\dot{V}O_2$) and carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$) were performed using an Oxymax/Comprehensive Laboratory Animal Monitoring System (CLAMS; Columbus Instruments). Mice ran at 5, 9, 12, and 15 $m \cdot min^{-1}$ at a 15° inclination for 5 min at each velocity [20]. Treadmill velocity was then increased by 2 $m \cdot min^{-1}$ every 2 min until exhaustion, defined as the inability to return to treadmill running after 10 seconds. Maximal aerobic speed (MAS) was defined as the speed at which $\dot{V}O_2$ plateaued. We chose to do not assess $\dot{V}O_2$ posttraining to keep enough mice in each group of mice and to avoid bias analysis. Indeed, the risk of death of the Townes mice during this kind of incremental maximal exercise test dramatically increases with age according to the progression of disease severity [21].

2.3. Individualized Treadmill Aerobic Training Protocol. After 7 days of rest, they were randomly distributed into 4 groups: trained AA (Tr-AA), sedentary AA (Sed-AA), trained SS (Tr-SS), and sedentary SS (Sed-SS). Trained mice ran 1 h/day, 5 days/week at 40%-60% MAS for 8 weeks at 15° inclination on a motorized treadmill (Figure 1) [22] (RM Exer-3/6 open treadmill with manual incline; Columbus Instruments). If mice did not keep up with treadmill speed, they were manually encouraged to run and/or exposed to brief periods of electric shock. The sedentary groups were exposed to the treadmill 1 day/week and handled daily in the same way as mice in the trained group.

2.4. Muscle Sampling. Mice were anesthetized and euthanized by cervical dislocation 72 h after the last exercise session. The *gastrocnemius*, *soleus*, and *plantaris* were harvested, weighed, and then immediately frozen in liquid nitrogen. Muscles were homogenized in a lysis buffer (20 mM Tris; 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid; 100 mM sodium chloride; 0.5% (v/v) Triton x100) and centrifuged at 12 000 RCF and 4°C for 10 min. Protein concentrations were assayed with a BCA kit (Novagen #71285.3, Darmstadt, Germany), and all results were normalized by grams of total protein.

2.5. Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in Skeletal Muscle. All biochemical products used for oxidative stress assays were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis,

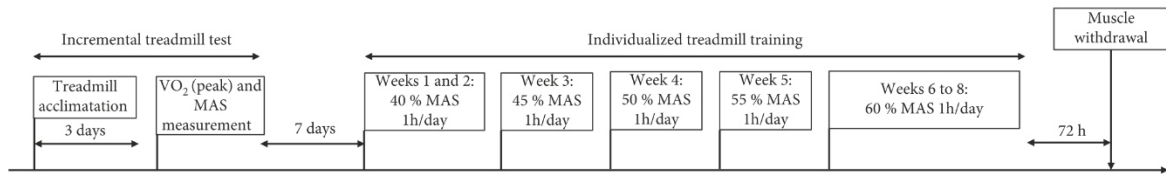


FIGURE 1: Schematic view of the training protocol procedure for healthy and sickle trained mice. $\dot{V}O_2$ (peak): peak oxygen consumption; MAS: maximal aerobic speed.

MO, USA), and spectrophotometric measurements were performed on a TECAN Infinite 2000 plate reader (Männedorf, Switzerland).

2.5.1. Oxidative Stress Markers. Muscle malondialdehyde (MDA) concentrations were determined as thiobarbituric reactive substances, as previously described [23]. NADPH oxidase (NOX) and xanthine oxidase (XO) activities were calculated by measuring the kinetic of appearance of the complex superoxide anion/nitrotetrazolium blue (NTB) spectrophotometrically at 560 nm [24].

2.5.2. Antioxidant Enzymes. Glutathione peroxidase (GPX) activity in skeletal muscle was assayed using Paglia and Valentine's [25] modified method, which uses hydrogen peroxide (H_2O_2) as a substrate. Superoxide dismutase (SOD) activity was quantified using the Beauchamp and Fridovich's [26] method, slightly modified by Oberley and Spitz [27]. Catalase (Cat) activity in the skeletal muscle was determined using Johansson and Borg's [28] method, which uses H_2O_2 as a substrate and formaldehyde as a standard.

2.5.3. Citrate Synthase Activity. Citrate synthase (CS) activity was assessed following the production of mercaptide ions spectrophotometrically at 412 nm by adding dinitrothiocyanobenzene (DTNB), acetyl-CoA, and oxaloacetic acid.

2.6. Statistical Analysis. Data are expressed as the mean \pm SEM. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Normality was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. Student's *t*-test was used to compare exercise capacity between healthy and sickle mice. Two-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test was used to compare enzyme activities and oxidative stress markers among groups. The significance level was set at $p < 0.05$. A tendency was also considered for $0.05 \leq p < 0.1$. The statistical power (β) has been calculated with and alpha level set at 0.05.

3. Results

3.1. Peak Exercise Capacity. At baseline, incremental treadmill tests showed that SS mice had 17% lower $\dot{V}O_2$ peak than AA mice (Table 1). Also, MAS was significantly decreased in SS mice compared to AA mice (-57%; Table 1).

3.2. Citrate Synthase Activity. In the *gastrocnemius*, CS activity was significantly higher in SS compared to AA mice in the trained group ($p < 0.05$, $\beta = 0.92$). It tended to be higher in trained SS compared to their sedentary counterparts

TABLE 1: Peak exercise capacity activity for all groups prior to training.

	AA ($n = 12$)	SS ($n = 17$)
$\dot{V}O_2$ peak ($ml \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$)	8407.0 \pm 224.5	7046 \pm 118.2***
Maximal aerobic speed ($m \cdot min^{-1}$)	29.3 \pm 1.7	13.6 \pm 0.5***

Data are expressed as mean \pm SEM. *** $p < 0.001$.

($p = 0.06$, $\beta = 0.81$, Figure 2(a)) while no differences were observed between Tr-AA and Sed-AA mice ($p = 0.99$, $\beta = 0.06$, Figure 2(a)).

In the *plantaris* and the *soleus*, CS activity did not differ between the four groups.

3.3. Prooxidant and Oxidative Stress Markers. In the *gastrocnemius*, a significant interaction effect (genotype \times training, $p < 0.01$, $\beta = 0.99$) was observed for NOX while neither genotype nor training effects were identified for XO activity (Figures 2(b) and 2(c)). NOX activity was 2-fold higher ($p < 0.001$, $\beta = 1$) in trained SS compared to their sedentary counterparts (Figure 2(b)). Training did not significantly change MDA in healthy or sickle mice. However, a significant genotype effect ($p < 0.01$) was observed for MDA with a higher level of MDA observed in SS compared to AA mice, as evidenced by an almost twofold higher level in Tr-SS compared with Tr-AA mice (Figure 2(d)).

In the *plantaris*, XO and NOX activities were not modified by training in the AA or SS mice (Figures 3(b) and 3(c)). In contrast, MDA concentrations were significantly higher in Tr-SS vs. Tr-AA mice ($p < 0.05$, $\beta = 1$, Figure 3(d)) and were twofold lower in trained vs. sedentary AA mice.

In the *soleus*, MDA concentrations did not differ between the four groups. However, similar to the *plantaris*, a significant interaction effect (genotype \times training, $p < 0.01$, $\beta = 0.72$) was observed with a nearly twofold higher level in Tr-SS compared to Tr-AA mice (Figure 4(c)).

3.4. Antioxidant Enzyme Activities. In the *gastrocnemius* of SS mice, we found significantly higher SOD ($p < 0.05$, $\beta = 0.96$, Figure 2(e)) and catalase activities ($p < 0.05$, $\beta = 0.82$, Figure 2(f)) (50% and 85%, respectively) in Tr-SS compared to Sed-SS mice. In addition, significantly higher SOD activity was found in Tr-SS compared to Tr-AA mice ($p < 0.05$, $\beta = 0.99$, Figure 2(e)). Training did not significantly affect GPX activity in Tr-SS compared to Sed-SS mice ($p = 0.12$, $\beta = 0.57$, Figure 2(g)). However, a genotype effect

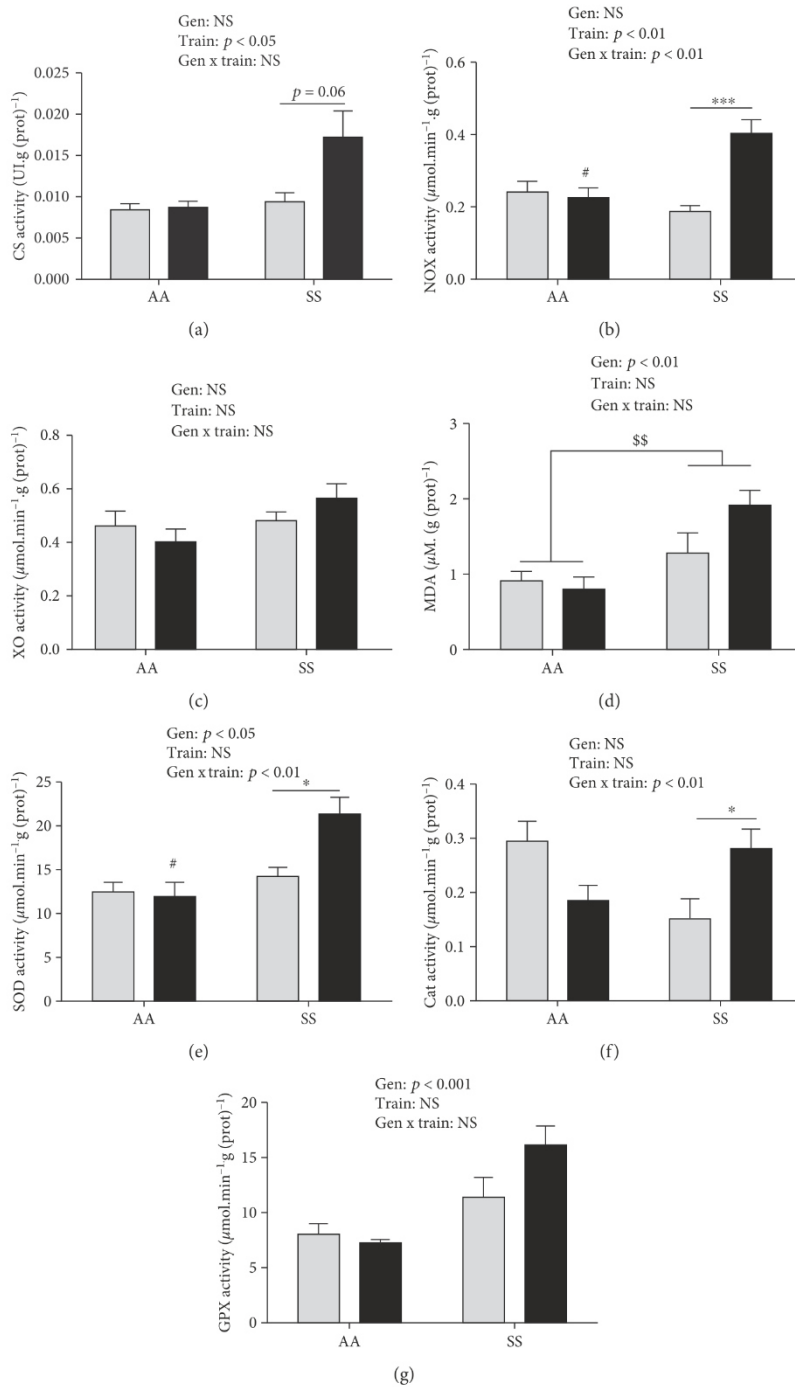


FIGURE 2: Citrate synthase (CS) activity (a), prooxidant enzyme activities (b, c) malondialdehyde (MDA) concentration (d), and antioxidant enzyme activities (e–g) in the *gastrocnemius*. Cat: catalase; GPX: glutathione peroxidase; NOX: NADPH oxidase; SOD: superoxide dismutase; XO: xanthine oxidase. Data are expressed as the mean \pm SEM. Gen: genotype effect; Train: training effect; Gen x train: genotype \times interaction effect. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, \$\$ $p < 0.01$, and # $p < 0.01$ vs. Tr-SS. $n(\text{Sed-AA}) = 6$, $n(\text{Tr-AA}) = 6$, $n(\text{Sed-SS}) = 7$, and $n(\text{Tr-SS}) = 10$. Grey bars: sedentary mice; black bars: trained mice.

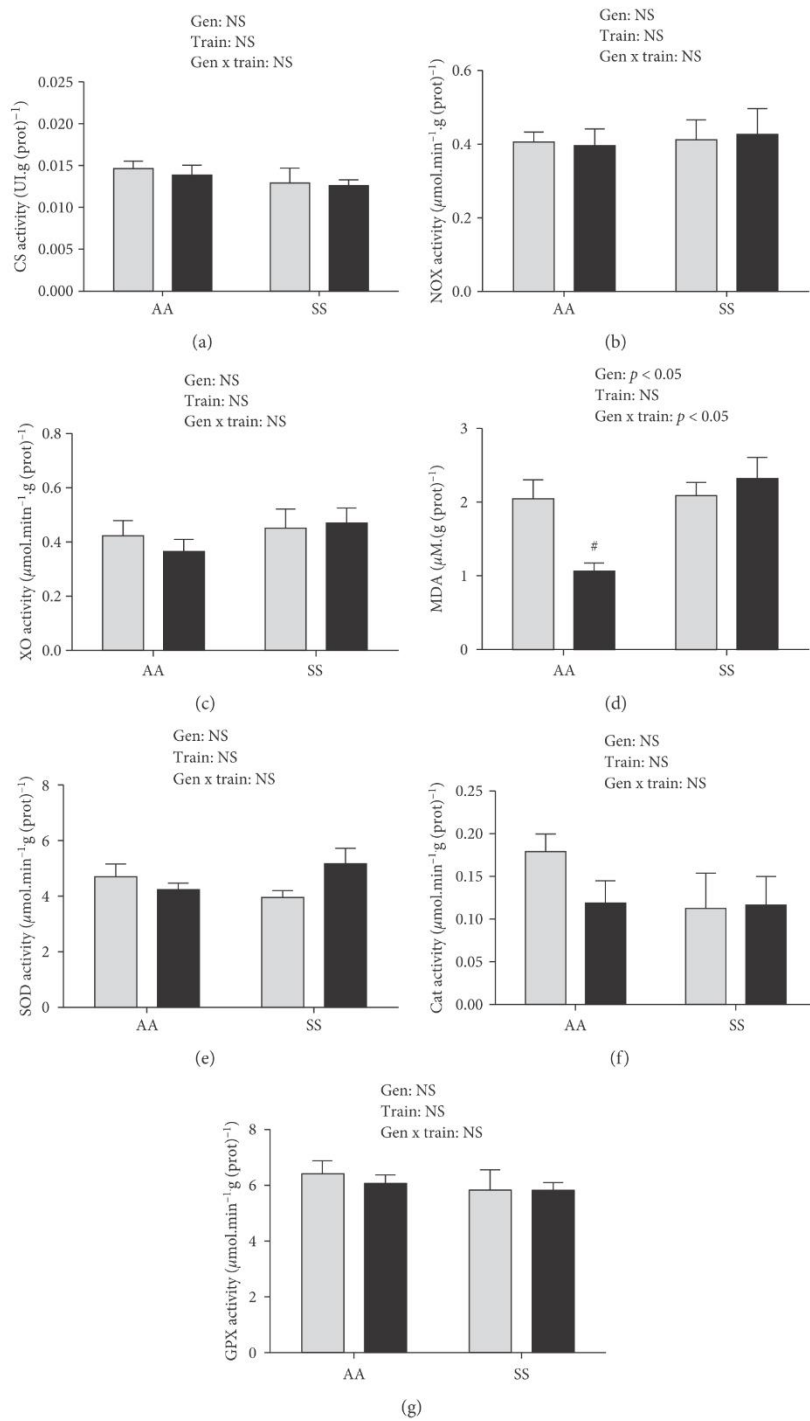


FIGURE 3: Citrate synthase (CS) activity (a), prooxidant enzyme activities (b, c) malondialdehyde (MDA) concentration (d), and antioxidant enzyme activities (e–g) in the *plantaris*. Cat: catalase; GPX: glutathione peroxidase; NOX: NADPH oxidase; SOD: superoxide dismutase; XO: xanthine oxidase. Data are expressed as the mean \pm SEM. Gen: genotype effect; Train: training effect; Gen x train: genotype \times interaction effect. [#] $p < 0.05$ vs. Tr-SS. $n(\text{Sed-AA}) = 6$, $n(\text{Tr-AA}) = 6$, $n(\text{Sed-SS}) = 7$, and $n(\text{Tr-SS}) = 10$. Grey bars: sedentary mice; black bars: trained mice.

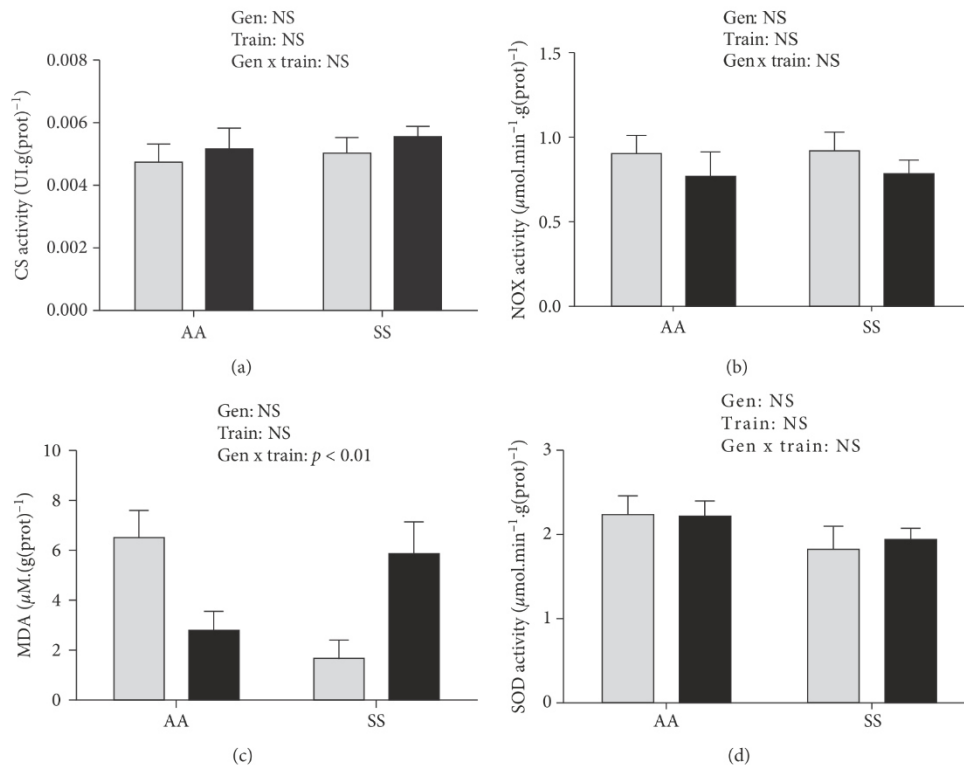


FIGURE 4: Citrate synthase (CS) activity (a), NADPH oxidase (NOX) activity (b), malondialdehyde (MDA) concentration (c), and superoxide dismutase (SOD) activity (d) in the *soleus*. Data are expressed as the mean \pm SEM. Gen: genotype effect; Train: training effect; Gen x train: genotype \times interaction effect. $n(\text{Sed-AA}) = 6$, $n(\text{Tr-AA}) = 6$, $n(\text{Sed-SS}) = 7$, and $n(\text{Tr-SS}) = 10$. Grey bars: sedentary mice; black bars: trained mice.

was identified ($p < 0.01$) with higher GPX in SS compared to AA mice independent of a sedentary or trained status.

In the *plantaris* and in the *soleus*, neither training nor genotype effects were observed (Figures 3(e)–3(g); Figure 4(d)).

4. Discussion

The aim of this study was to evaluate the effects of sickle genotype on the prooxidant/antioxidant response to endurance exercise in three skeletal muscles of SCD transgenic mice. Our results demonstrated that an 8-week individualized moderate-intensity treadmill training program (i) increased oxidative stress markers and (ii) increased antioxidant enzyme activity in the *gastrocnemius*, but not in the *plantaris* and in the *soleus* of trained Townes SS mice.

Markers of lipid peroxidation and prooxidant enzymes activities are higher in SS mice after 8 weeks of individualized moderate-intensity treadmill training program. Indeed, NOX [29] was reported as a main producer of ROS in skeletal muscle, and CS [30] has been extensively used as a marker for assessing muscle mitochondrial volume density as well as mitochondrial ROS production. Both may indicate higher ROS production in the *gastrocnemius*. Also, elevated intracellular acidosis previously observed in these mice [7] may

cause higher ROS production. Acidosis has been shown to increase oxidative stress by promoting Fenton reactions and by causing a protonation of the peroxynitrite anion that can lead to the production of radical hydroxyl, one of the most powerful ROS [11, 12]. Meanwhile, the 8-week individualized moderate-intensity treadmill training program also increased antioxidant enzymes. This suggests that the pro-antioxidant balance in the *gastrocnemius* of trained sickle mice could be equilibrated as illustrated by the lack of change in MDA in response to the exercise training. Our findings are in accordance with previous studies in rodents after aerobic training [31–33], as we found higher SOD and catalase activities in trained sickle mice. This increase of antioxidant enzyme activities could be attributed to the increase in NOX activity and subsequent ROS production involved in the oxidative stress signaling pathway [33, 34]. Higher CS activity may also be explained by an increased ROS production which could act as a signaling stimulus to increase mitochondrial content and oxidative capacity in skeletal muscles [35]. As previously reported in healthy mice, exogenous supplementation of N-acetylcysteine, a precursor of glutathione synthesis, was found to attenuate exercise-induced upregulation of endogenous antioxidants, including SOD and catalase activities in the *gastrocnemius* [33]. Those results suggest [33] the importance of a minimal ROS content

(i.e., mild prooxidant environment) to training-induced adaptation of skeletal muscle.

While endurance training has been found to reduce inflammation, splenic enlargement, cardiac and hepatic oxidative stress in a similar transgenic sickle mice model [18], these results suggest an adaptive response to endurance training on pro-antioxidant balance in the skeletal muscle of sickle mice. Surprisingly, resting NOX and XO activities as well as MDA concentration did not differ between AA and SS sedentary mice. Therefore, it is likely that oxidative stress is not changed at rest in skeletal muscle in sedentary sickle mice, unlike in their trained counterparts. This could also suggest that skeletal muscle may be less affected by the disease than other organs in these mice [5].

Changes in the balance of pro-antioxidant markers in the *gastrocnemius* after an 8-week individualized moderate-intensity treadmill training program were only observed in trained SS mice and not in their AA counterparts. Previous results reported no modifications in muscular oxidative stress in AA mice exposed to endurance training program [19] while higher training intensity was shown to decrease oxidative stress and increase antioxidant markers in the muscle of healthy mice [36]. Therefore, our training intensity/speed (40%-60% MAS) could not be enough to trigger oxidative stress adaptations in the *gastrocnemius* of AA Townes mice. In addition, our results in the *gastrocnemius* differ from those of Chatel et al. [19], who did not report changes in the pro-antioxidant balance between trained and sedentary sickle mice in the *tibialis anterior* after 7 weeks of aerobic training. These differences may be explained by the individualization of the training speed in our study (speed calculated from the percentage of MAS from each mice) compared to Chatel et al. [19] who used the same speed for all the mice or by the muscle investigated (i.e., *tibialis anterior*), whose typology is nearly similar to the *plantaris* [37].

While moderate endurance training induced oxidative stress adaptations in the *gastrocnemius* of Tr-SS, no effects were observed in the *plantaris* and the *soleus*. The differential response to endurance training in each muscle could be explained by their relative contribution in treadmill locomotion. Indeed, the *gastrocnemius*, which represents more than 80% of the posterior hindlimb muscles in the mice [6], has a higher contribution in the generation of mechanical work during locomotion than the *plantaris* and *soleus* [38].

Thus, it seems that the skeletal muscle work generated by running at 40-60% of MAS was sufficient to induce muscular changes in oxidative stress in Tr-SS but was too mild to trigger oxidative stress adaptations in Tr-AA mice. Therefore, our data provide evidence that the use of individualized training intensities might be a factor to consider when designing endurance training protocols for sickle cell mice or patients.

5. Conclusion

In conclusion, our results show that an 8-week individualized moderate-intensity treadmill training program increased prooxidant and antioxidant enzyme activities in the *gastrocnemius* of transgenic sickle mice suggesting an effect of SS

genotype on pro-antioxidant response to endurance training in these mice. Individualization of exercise intervention should be considered in the context of therapeutic care of SCD patients, in line with the conclusions of the first randomized controlled trial training program performed in homozygous SCD patients [16]. Our results combined with the improvement in skeletal muscle characteristics reported in Gellen et al.'s study [16] strengthen the idea that skeletal muscle is a key target to consider in further therapeutic protocol. Further studies should be conducted to better characterize the percentage of training intensity that may trigger oxidative stress and skeletal muscle adaptations without associated complications in these individuals.

Abbreviations

AA:	Healthy genotype of hemoglobin
ANOVA:	Analysis of variance
AS:	Heterozygous genotype of sickle cell disease
Cat:	Catalase
CK:	Creatine kinase
COX:	Cytochrome C oxidase
CS:	Citrate synthase
DTNB:	Dinitrothiocyanobenzene
GR:	Glutathione reductase
GSH:	Glutathione
GPX:	Glutathione peroxidase
H ₂ O ₂ :	Hydrogen peroxide
HbS:	Hemoglobin S
MAS:	Maximal aerobic speed
MDA:	Malondialdehyde
NADPH:	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NOX:	NADPH oxidase
RBC:	Red blood cell
ROS:	Reactive oxygen species
SCD:	Sickle cell disease
Sed-AA:	Sedentary healthy Townes mice
Sed-SS:	Sedentary homozygous sickle Townes mice
SOD:	Superoxide dismutase
SS:	Homozygous genotype of sickle cell disease
Tr-AA:	Trained healthy Townes mice
Tr-SS:	Trained homozygous sickle Townes mice
$\dot{V}CO_2$:	Carbon dioxide output
$\dot{V}O_2$:	Oxygen consumption
XO:	Xanthine oxidase.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest

The authors have no competing interests, including specific financial interests, relationships, and/or affiliations relevant to the subject matter or materials included in this manuscript.

Authors' Contributions

EG, EC, JD, SFOA, CM, and CH are responsible for the study design. EG, EC, and AB are assigned to the acquisition of data. EG, BC, VP, CH, and CF analyzed and interpreted the data. EG, EC, VP, CH, and CF drafted the manuscript. BC, LM, CM, and PC are responsible for the critical revision of the manuscript.

Acknowledgments

This study was conducted with research funding from the Institut Universitaire de France (PC, VP) and the National Heart, Lung, and Blood Institute (SFOA: R01 HL106192 and U01 HL117721). We thank Frances Weidert and Bethany Flage for their technical support.

References

- [1] D. C. Rees, T. N. Williams, and M. T. Gladwin, "Sickle-cell disease," *The Lancet*, vol. 376, no. 9757, pp. 2018–2031, 2010.
- [2] G. J. Kato, M. H. Steinberg, and M. T. Gladwin, "Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 127, no. 3, pp. 750–760, 2017.
- [3] K. Szocs, "Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance," *General Physiology and Biophysics*, vol. 23, no. 3, pp. 265–295, 2004.
- [4] E. N. Chirico, C. Faës, P. Connes, E. Canet-Soulas, C. Martin, and V. Pialoux, "Role of exercise-induced oxidative stress in sickle cell trait and disease," *Sports Medicine*, vol. 46, no. 5, pp. 629–639, 2016.
- [5] E. Charrin, S. F. Ofori-Acquah, E. Nader et al., "Inflammatory and oxidative stress phenotypes in transgenic sickle cell mice," *Blood Cells, Molecules & Diseases*, vol. 62, pp. 13–21, 2016.
- [6] B. Chatel, C. Hourdé, J. Gondin et al., "Impaired muscle force production and higher fatigability in a mouse model of sickle cell disease," *Blood Cells, Molecules & Diseases*, vol. 63, pp. 37–44, 2017.
- [7] B. Chatel, L. A. Messonnier, C. Hourdé, C. Vilmen, M. Bernard, and D. Bendahan, "Moderate and intense muscular exercises induce marked intramyocellular metabolic acidosis in sickle cell disease mice," *Journal of Applied Physiology*, vol. 122, no. 5, pp. 1362–1369, 2017.
- [8] M. Ravelojaona, L. Féasson, S. Oyono-Enguélé et al., "Evidence for a profound remodeling of skeletal muscle and its microvasculature in sickle cell anemia," *The American Journal of Pathology*, vol. 185, no. 5, pp. 1448–1456, 2015.
- [9] K. A. Dougherty, C. Bertolaso, J. I. Schall, K. Smith-Whitley, and V. A. Stallings, "Muscle strength, power, and torque deficits in children with type SS sickle cell disease," *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, vol. 40, no. 5, pp. 348–354, 2018.
- [10] S. Genet, R. Kale, and N. Baquer, "Effects of free radicals on cytosolic creatine kinase activities and protection by antioxidant enzymes and sulfhydryl compounds," *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 210, no. 1/2, pp. 23–28, 2000.
- [11] J. A. Kellum, M. Song, and J. Li, "Science review: extracellular acidosis and the immune response: clinical and physiologic implications," *Critical Care*, vol. 8, no. 5, pp. 331–336, 2004.
- [12] W. Hassan, M. Ibrahim, and J. B. T. Rocha, "Low pH does not modulate antioxidant status of diphenyl ditelluride but exacerbates Fe (II)-induced lipid peroxidation in liver preparation," *Drug and Chemical Toxicology*, vol. 32, no. 4, pp. 438–442, 2009.
- [13] S. K. Powers and M. J. Jackson, "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production," *Physiological Reviews*, vol. 88, no. 4, pp. 1243–1276, 2008.
- [14] M. J. Jackson, A. Vasilaki, and A. McArdle, "Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise," *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 98, pp. 13–17, 2016.
- [15] C. Martin, V. Pialoux, C. Faes, E. Charrin, S. Skinner, and P. Connes, "Does physical activity increase or decrease the risk of sickle cell disease complications?," *British Journal of Sports Medicine*, vol. 52, no. 4, pp. 214–218, 2018.
- [16] B. Gellen, L. A. Messonnier, F. Galactéros et al., "Moderate-intensity endurance-exercise training in patients with sickle-cell disease without severe chronic complications (EXDRE): an open-label randomised controlled trial," *The Lancet Haematology*, vol. 5, no. 11, pp. e554–e562, 2018.
- [17] E. Charrin, E. Aufradet, A. Douillard et al., "Oxidative stress is decreased in physically active sickle cell SAD mice," *British Journal of Haematology*, vol. 168, no. 5, pp. 747–756, 2015.
- [18] E. Charrin, J. J. Dubé, P. Connes et al., "Moderate exercise training decreases inflammation in transgenic sickle cell mice," *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, vol. 69, pp. 45–52, 2018.
- [19] B. Chatel, L. A. Messonnier, Q. Barge et al., "Endurance training reduces exercise-induced acidosis and improves muscle function in a mouse model of sickle cell disease," *Molecular Genetics and Metabolism*, vol. 123, no. 3, pp. 400–410, 2018.
- [20] O. J. Kemi, J. P. Loennechen, U. Wisløff, and Ø. Ellingsen, "Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy," *Journal of Applied Physiology*, vol. 93, no. 4, pp. 1301–1309, 2002.
- [21] T. M. Ryan, D. J. Ciavatta, and T. M. Townes, "Knockout-transgenic mouse model of sickle cell disease," *Science*, vol. 278, no. 5339, pp. 873–876, 1997.
- [22] M. G. Pereira, J. C. B. Ferreira, C. R. Bueno Jr. et al., "Exercise training reduces cardiac angiotensin II levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 105, no. 6, pp. 843–850, 2009.
- [23] V. Pialoux, R. Mounier, E. Ponsot et al., "Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 60, no. 12, pp. 1345–1354, 2006.
- [24] S. Laouafa, A. Ribon-Demars, F. Marcouiller et al., "Estradiol protects against cardiorespiratory dysfunctions and oxidative stress in intermittent hypoxia," *Sleep*, vol. 40, no. 8, 2017.
- [25] D. E. Paglia and W. N. Valentine, "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase," *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 70, no. 1, pp. 158–169, 1967.
- [26] C. Beauchamp and I. Fridovich, "Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels," *Analytical Biochemistry*, vol. 44, no. 1, pp. 276–287, 1971.
- [27] L. W. Oberley and D. R. Spitz, "Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue," *Methods in Enzymology*, vol. 105, pp. 457–464, 1984.

- [28] L. H. Johansson and L. A. Håkan Borg, "A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples," *Analytical Biochemistry*, vol. 174, no. 1, pp. 331–336, 1988.
- [29] G. K. Sakellariou, M. J. Jackson, and A. Vasilaki, "Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases," *Free Radical Research*, vol. 48, no. 1, pp. 12–29, 2013.
- [30] S. Larsen, J. Nielsen, C. N. Hansen et al., "Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects," *The Journal of Physiology*, vol. 590, no. 14, pp. 3349–3360, 2012.
- [31] S. K. Powers, D. Criswell, J. Lawler et al., "Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle," *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 266, no. 2, Part 2, pp. R375–R380, 1994.
- [32] D. R. Plant, P. Gregorevic, S. A. Warmington, D. A. Williams, and G. S. Lynch, "Endurance training adaptations modulate the redox–force relationship of rat isolated slow-twitch skeletal muscles," *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, vol. 30, no. 1–2, pp. 77–81, 2003.
- [33] T. L. Merry and M. Ristow, "Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (NFE2L2, Nrf2) mediates exercise-induced mitochondrial biogenesis and the anti-oxidant response in mice," *The Journal of Physiology*, vol. 594, no. 18, pp. 5195–5207, 2016.
- [34] P. Steinbacher and P. Eckl, "Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle," *Biomolecules*, vol. 5, no. 2, pp. 356–377, 2015.
- [35] N. A. Strobel, J. M. Peake, A. Matsumoto, S. A. Marsh, J. S. Coombes, and G. D. Wadley, "Antioxidant supplementation reduces skeletal muscle mitochondrial biogenesis," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 43, no. 6, pp. 1017–1024, 2011.
- [36] J. C. B. Ferreira, A. V. Bacurau, C. R. Bueno Junior et al., "Aerobic exercise training improves Ca²⁺ handling and redox status of skeletal muscle in mice," *Experimental Biology and Medicine*, vol. 235, no. 4, pp. 497–505, 2010.
- [37] D. Bloemberg and J. Quadriatero, "Rapid determination of myosin heavy chain expression in rat, mouse, and human skeletal muscle using multicolor immunofluorescence analysis," *PLoS One*, vol. 7, no. 4, article e35273, 2012.
- [38] B. I. Prilutsky, W. Herzog, and T. L. Allinger, "Mechanical power and work of cat soleus, gastrocnemius and plantaris muscles during locomotion: possible functional significance of muscle design and force patterns," *The Journal of Experimental Biology*, vol. 199, Part 4, pp. 801–814, 1996.

Les résultats de cette étude 2 montrent que l'exercice chronique aérobie d'intensité modérée induit des adaptations au niveau du stress oxydatif musculaire des souris Townes mais le bénéfice de ces adaptations reste encore discutable. En effet, cet exercice provoque une augmentation de l'activité de la NOX suggérant une augmentation du stress oxydatif musculaire. De plus, l'augmentation de l'activité de la citrate synthase, bien qu'étant une tendance, indiquerait que la quantité en mitochondries serait plus importante chez les souris Townes S/S, ce qui pourrait être un signe d'une plus grande capacité oxydative. Cependant, une augmentation de la quantité en mitochondries pourrait également être associée par une production d'EORs accrue au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes SOD et CAT suggèrent la présence d'une compensation afin de limiter le stress oxydatif induit par la production d'EORs par NOX. Cette hypothèse est renforcée par l'absence d'augmentation de MDA, un marqueur de la peroxydation des lipides. Ces adaptations, observées uniquement chez les souris Townes S/S, montre qu'il y aurait un effet du phénotype drépanocytaire sur la réponse à l'exercice chronique dans le muscle squelettique. De plus, il est à noter que les adaptations observées ont lieu uniquement dans le *gastrocnemius*. Cette spécificité de réponse pourrait s'expliquer à la fois par la typologie particulière du *gastrocnemius* (Bloemberg & Quadrilatero, 2012) mais également par son implication dans la locomotion, qui est supérieure à celle du *soleus* et du *plantaris* à l'intensité d'exercice choisie (Prilutsky et al., 1996).

Comme évoqué précédemment, plusieurs auteurs ont fait l'hypothèse que le stress oxydatif était augmenté dans le muscle squelettique drépanocytaire, cependant nos résultats ne mettent pas en évidence de différences du statut pro/antioxydant entre les souris Townes S/S et

A/A. Ces résultats contrastent avec le stress oxydatif accru décrit dans plusieurs organes de la souris Townes S/S (Charrin et al., 2016) suggérant que le muscle squelettique pourrait être moins impacté par la drépanocytose que d'autres organes, comme les poumons ou la rate, dans ce modèle de souris transgénique.

En conclusion, ces résultats montrent que les modifications de la balance pro/antioxydante induites par l'exercice chronique aérobie sont altérées par la drépanocytose. Ainsi cela suggère que la production d'EORs au sein du muscle squelettique au cours d'un exercice pourrait être augmentée, bien que cette hypothèse reste à confirmer. Dans un contexte clinique, ces résultats confirment que le muscle squelettique semble être une cible thérapeutique d'intérêt dans la réhabilitation des patients drépanocytaires à l'exercice. Il semble également nécessaire de mener d'autres études afin de caractériser de façon plus précise les effets de l'exercice chronique sur le muscle squelettique.

CONCLUSIONS GENERALES

La première partie de ce travail de thèse était d'étudier les modifications de la fonction musculaire et de ses déterminants au cours d'un exercice sous-maximal du quadriceps et au cours d'un T6M. Le principal résultat de cette étude est que les patients S/S et S/C présentent une dysfonction musculaire marquée qui se caractérise par une diminution de la capacité de production de force et une fatigabilité accrue. Plusieurs études ont déjà montré une réduction de la force maximale isométrique au niveau de l'avant-bras (Dougherty et al., 2018; Gonçalves et al., 2019; Moheeb et al., 2007; Waltz, et al., 2012b) cependant seules deux études se sont intéressées à la fatigabilité musculaire et n'ont pas observé de différences avec les sujets sains (Gonçalves et al., 2019; Waltz et al., 2012b). Cette divergence avec nos résultats peut s'expliquer par la modalité d'exercice choisie au cours de ces études dans lesquelles l'intensité d'exercice n'était pas suffisante pour induire une fatigue musculaire ou était associée à l'apparition de mécanismes centraux de la fatigue musculaire. Au repos, les patients drépanocytaires S/S présente une oxygénation du quadriceps réduite par rapport aux sujets sains A/A comme décrit auparavant au niveau de l'avant-bras (Waltz et al., 2012b). Cependant, l'absence de différences d'oxygénation entre les deux groupes à l'effort indiqueraient que l'oxygénation musculaire est maintenue à l'exercice malgré les altérations vasculaires. Au regard de nos résultats, cela indiquerait que la fatigabilité accrue est la conséquence d'altérations intramusculaires plutôt que d'une diminution de l'oxygénation à l'exercice. Un autre résultat intéressant de cette étude est que la cinétique d'apparition de la fatigue musculaire est différente entre les deux génotypes suggérant une fatigabilité accrue chez les S/S par rapport aux S/C. Traditionnellement, il était considéré que les patients S/C étaient décrits par une sévérité clinique moindre par rapport aux patients S/S (Nagel et al., 2003) cependant des études

récentes ont montré qu'ils sont caractérisés par un tableau clinique spécifique (Lionnet et al., 2012) ainsi qu'une capacité fonctionnelle et une espérance de vie plus élevée que les patients S/S (Elmariah et al., 2014; Waltz et al., 2013b). Il semblerait également que le muscle squelettique des patients S/C puisse être moins altéré que celui des patients S/S comme le suggère les cinétiques d'apparition de la fatigue musculaire. Enfin, plusieurs complications cliniques chroniques sont la conséquence directe de l'anémie et de la répétition de CVOs silencieuses (Audard et al., 2017; Kato et al., 2017; Zalavras & Lieberman, 2014). Ces deux phénomènes pourraient également expliquer les modifications histologiques observées au niveau du muscle squelettique (Ravelojaona et al., 2015). Cependant, nous n'observons pas de corrélations entre la fatigabilité musculaire et l'anémie ou le taux de CVOs. Ainsi, il semblerait que les altérations musculaires responsables de la fatigabilité accrue soient provoqués par des mécanismes indépendants de l'anémie et de la répétition de CVOs.

En parallèle, la seconde partie de ce travail de thèse a permis de mettre en évidence qu'il n'y a pas d'élévation du stress oxydatif à l'état basal dans le muscle squelettique drépanocytaire mais que la réponse musculaire sur la balance pro/antioxydant à l'exercice chronique aérobie est altérée. Il a été proposé qu'un stress oxydatif élevé puisse être à l'origine de plusieurs altérations observées dans le muscle squelettique (Ravelojaona et al., 2015) mais nos résultats tendent à montrer que les altérations musculaires ont une origine différente. Cependant, il est possible qu'un stress oxydatif élevé puisse être impliqué dans l'altération de la réponse musculaire à l'exercice chronique aérobie. En effet, les adaptations de la balance pro/antioxydante sont provoquées par une élévation transitoire de la production d'EORs au sein

du muscle squelettique durant l'exercice (Merry & Ristow, 2016; Powers et al., 2011). Ainsi, il est possible que cette production d'EORs soit plus élevée dans le muscle squelettique des souris Townes S/S. Bien que la source principale d'EORs à l'exercice soit la NOX (Sakellariou et al., 2014), il a été montré que l'acidose participait également à la production d'EORs, notamment d' $\text{HO}\cdot$ (Hassan et al., 2009; Kellum et al., 2004). Ainsi, il est possible de faire l'hypothèse que l'acidose intramusculaire marquée à l'exercice observée chez la souris Townes puisse participer de façon importante à la production d'EORs (Chatel et al., 2017b). Bien qu'elle reste à confirmer, cette hypothèse séduisante permettrait également d'expliquer les altérations fonctionnelles observées au cours de l'exercice dans le muscle squelettique drépanocytaire.

En conclusion, ce travail de thèse a permis de mettre en évidence une dysfonction musculaire à l'exercice marquée chez les patients drépanocytaires qui se caractérise notamment par une fatigabilité accrue. Ces premiers résultats renforcent le muscle squelettique comme une cible thérapeutique majeure dans la réhabilitation des patients drépanocytaires à l'exercice. Des études pionnières ont déjà mis en évidence des bénéfices certains de l'exercice chronique aérobie sur le muscle squelettique des patients drépanocytaires. Cependant, les résultats que nous obtenons chez la souris indiquent que le phénotype drépanocytaire peut altérer la réponse musculaire à l'exercice chronique. Il semble donc nécessaire de caractériser de façon plus précise les effets de l'exercice chronique sur la fonction musculaire afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients drépanocytaires.

PERSPECTIVES

Le principal résultat de la première étude de ce travail de thèse indique que les patients drépanocytaires S/S et S/C sont caractérisés par une dysfonction musculaire marquée qui se définit par une diminution de la Fmax ainsi qu'une fatigabilité accrue à l'exercice. De plus, les résultats de cette première étude suggèrent que cette dysfonction pourrait être fortement impliquée dans la réduction de la capacité à l'exercice observée chez les patients drépanocytaires, comme cela peut être le cas dans d'autres pathologies chroniques (Arena et al., 2014; Hendrican et al., 2000; Londhe & Guttridge, 2015). Dans ces dernières, il a été démontré que l'exercice chronique en résistance seul ou combiné avec de l'exercice aérobie avait un effet bénéfique sur la fonction musculaire et la capacité à l'exercice des patients (Rinaldo et al., 2017; Schroeder et al., 2019; Yoshiko et al., 2018). Ainsi, bien que les effets de l'exercice chronique aérobie seul sur le muscle squelettique soient décrits, il semble également intéressant et nécessaire d'étudier les effets de ces deux modalités d'entraînement sur la fonction musculaire squelettique, *i.e.* sa capacité à produire de la force et sa fatigabilité, des patients drépanocytaires. L'exercice chronique en résistance semble une alternative séduisante à l'exercice chronique aérobie car, contrairement à ce dernier, il pourrait induire des effets bénéfiques sur la fonction musculaire squelettique sans induire des perturbations responsables du déclenchement de CVOs. En effet, l'intensité d'exercice choisie au cours de notre première étude semble induire suffisamment de perturbations physiologiques pour induire des adaptations sans pour autant engendrer des CVOs. Dans un premier temps, il serait intéressant de caractériser les bénéfices de ce type d'exercice sur le muscle squelettique puis, dans un second temps, d'imaginer des protocoles de rééducation dont l'intégration au sein de la vie quotidienne serait facile pour les patients. Une limitation des protocoles effectués dans un cadre

hospitalier est qu'ils impliquent du matériel et/ou des exercices difficiles à reproduire dans le quotidien des patients. Ainsi, à la suite de ces protocoles, beaucoup de patients se retrouvent dans l'impossibilité de maintenir une activité physique chronique adaptée limitant par extension les bénéfices de l'exercice chronique sur la pathologie. La mise en place de ces protocoles permettrait ainsi de maintenir les bénéfices de l'exercice chronique dans un cadre domestique et tout au long de la vie. De plus, les résultats obtenus au cours de cette étude suggèrent des différences entre le muscle squelettique des patients S/S et celui des patients S/C à la fois d'un point de vue fonctionnel et probablement histologique. Plusieurs études ont précédemment mis en évidence des différences phénotypiques entre S/S et S/C à la fois au niveau du tableau clinique (Lionnet et al., 2012; Möckesch al., 2017a) et de l'espérance de vie (Elmariah et al., 2014), il semble donc intéressant d'étudier plus précisément le phénotype particulier des S/C de manière générale mais également les éventuelles différences musculaires entre les deux génotypes (Figure 28).

D'un point de vue fondamental, il est nécessaire de continuer à explorer et caractériser les altérations intracellulaires au niveau musculaire provoquées par la drépanocytose, notamment en termes de fatigabilité. La fatigabilité accrue observée chez les souris Townes S/S ne peut pas être expliquée seulement par la présence d'une acidose intramusculaire marquée à l'exercice. Il semblerait donc que d'autres mécanismes puissent être impliqués dans la fatigabilité du muscle squelettique drépanocytaire. Parmi ceux-ci, une altération de l'homéostasie calcique au cours de l'exercice constitue une hypothèse séduisante du fait de son rôle central dans le couplage excitation/contraction. Il a été récemment démontré qu'une

oxydation et/ ou une nitrosylation des protéines RyR et SERCA au repos et à l'exercice seraient impliquées dans la dysfonction musculaire observée dans plusieurs pathologies ainsi que dans l'apparition de la fatigue (Álvarez et al., 2009; Andersson et al., 2011; Bellinger et al., 2008; Waning et al., 2015). Ainsi, dans un premier temps, nous pourrions vérifier la présence de ces modifications à l'état basal dans le muscle drépanocytaire. Dans un second temps, nous envisageons d'étudier si ces modifications apparaissent au cours d'un exercice musculaire *ex vivo* et *in vivo* et si elles jouent un rôle dans la fatigabilité musculaire accrue. De plus, l'étude de la fatigabilité dans ces deux conditions permettrait plus précisément d'étudier l'implication des altérations intramusculaires et de leurs interactions avec l'environnement drépanocytaire sur la fatigabilité. Nous avons commencé à mettre en place des expérimentations dans le but de répondre à ces questions, malheureusement il n'est pas possible de montrer des résultats préliminaires à ce jour. La caractérisation des modifications cellulaires impliquées dans la dysfonction musculaire est un prérequis nécessaire dans l'identification de cibles thérapeutiques d'intérêts pour la réhabilitation et la prise en charge clinique des patients drépanocytaires (Figure 28).

En parallèle, la seconde étude de ce travail de thèse a mis en évidence que le phénotype drépanocytaire pouvait altérer la réponse à l'exercice chronique aérobie du muscle squelettique. Les récentes études menées chez le patient drépanocytaire ont montré que cette intervention présentait un intérêt certain dans l'amélioration de l'état pathologique du muscle squelettique. Cependant, nos résultats tendent à nuancer cette idée et suggèrent que des études futures sont nécessaires pour caractériser de façon plus précise les effets de ce type d'exercice sur le muscle

squelettique. De la même façon que la caractérisation des mécanismes responsables de la dysfonction musculaire, cela permettrait d'identifier précisément des cibles thérapeutiques d'intérêt lors de protocoles de réentraînement chez le patient drépanocytaire (Figure 28).

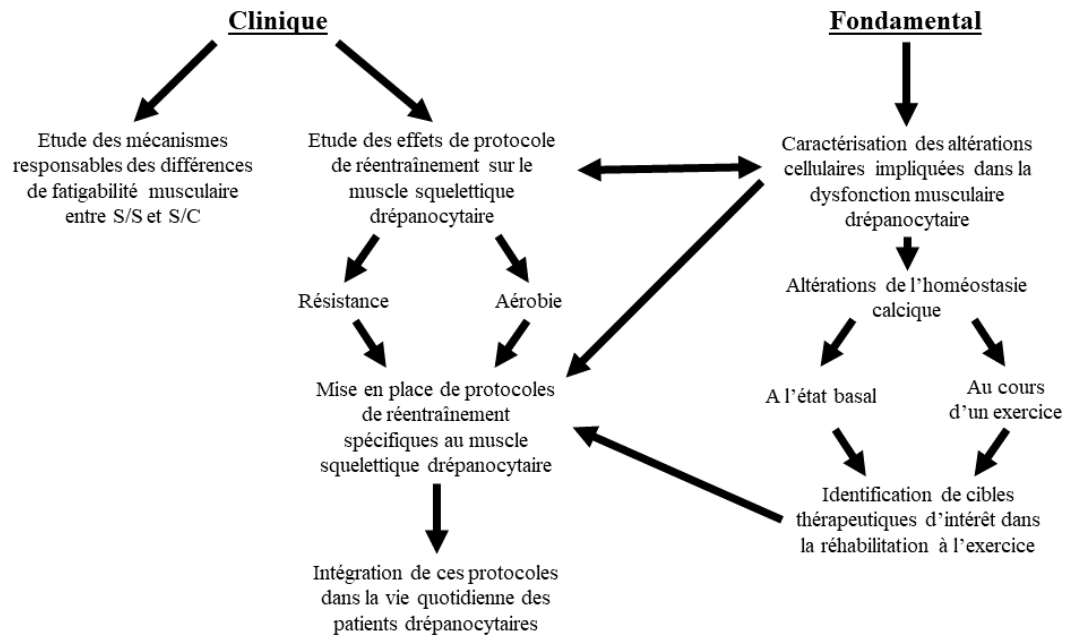


Figure 28 : Résumé des perspectives scientifiques apportées par ce travail de thèse.

REFERENCES

- Aagaard, P., Simonsen, E. B., Andersen, J. L., Magnusson, P., & Dyhre-Poulsen, P. (2002). Increased rate of force development and neural drive of human skeletal muscle following resistance training. *Journal of Applied Physiology*, 93(4), 1318–1326. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00283.2002>
- Abd El-Kader, S. M., & Al-Shreef, F. M. (2018). Impact of aerobic exercises on selected inflammatory markers and immune system response among patients with sickle cell anemia in asymptomatic steady state. *African Health Sciences*, 18(1), 111–119. <https://doi.org/10.4314/ahs.v18i1.15>
- Adams, G. R., Cheng, D. C., Haddad, F., & Baldwin, K. M. (2004). Skeletal muscle hypertrophy in response to isometric, lengthening, and shortening training bouts of equivalent duration. *Journal of Applied Physiology*, 96(5), 1613–1618. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01162.2003>
- Adams, V., Reich, B., Uhlemann, M., & Niebauer, J. (2017). Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: Focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 313(1), H72–H88. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00470.2016>
- Adisa, O. A., Hu, Y., Ghosh, S., Aryee, D., Osunkwo, I., & Ofori-Acquah, S. F. (2013). Association between plasma free haem and incidence of vaso-occlusive episodes and acute chest syndrome in children with sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, 162(5), 702–705. <https://doi.org/10.1111/bjh.12445>
- Adrian, R. H., Costantin, L. L., & Peachey, L. D. (1969). Radial spread of contraction in frog muscle fibres. *The Journal of Physiology*, 204(1), 231–257. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1969.sp008910>
- Ait Abdallah, N., Connes, P., Di Liberto, G., Offredo, L., Beaumont, J. L., Menouche, D., Debbache, K., Jebali, A., Habibi, A., Pirenne, F., Galacteros, F., Ranque, B., & Bartolucci, P. (2020). Automated RBC Exchange has a greater effect on whole blood viscosity than manual whole blood exchange in adult patients with sickle cell disease. *Vox Sanguinis*. <https://doi.org/10.1111/vox.12990>
- Ajibola, K. A., Adedokun, K. A., Oduola, T., Oparinde, D. P., Ayelagbe, O. G., & Ojokuku, H. O. (2019). Assessment of iron status and interplay between lipid peroxidation and antioxidant capacity in common hemoglobin variants in Osun State, southwestern Nigeria. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 35(6), 358–364. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12062>

- Alameri, H. F., Aleem, A., Kardas, W., Jehangir, A., Owais, M., & Al-Momen, A. (2008). Dyspnea, pulmonary function and exercise capacity in adult Saudi patients with sickle cell disease. *Saudi Medical Journal*, *29*(5), 707–713.
- Alhammoud, M., Morel, B., Girard, O., Racinais, S., Sevrez, V., Germain, A., Chamu, T., & Hautier, C. (2018). Hypoxia and Fatigue Impair Rapid Torque Development of Knee Extensors in Elite Alpine Skiers. *Frontiers in Physiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00962>
- Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: Cellular mechanisms. *Physiological Reviews*, *88*(1), 287–332. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2007>
- Alleyne, J., & Thomas, V. J. (1994). The management of sickle cell crisis pain as experienced by patients and their carers. *Journal of Advanced Nursing*, *19*(4), 725–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2648.1994.tb01144.x>
- Alsaied, T., Niss, O., Tretter, J. T., Powell, A. W., Chin, C., Fleck, R. J., Cnota, J. F., Malik, P., Quinn, C. T., Nagueh, S. M., Taylor, M. D., & Mazur, W. M. (2020). Left atrial dysfunction in sickle cell anemia is associated with diffuse myocardial fibrosis, increased right ventricular pressure and reduced exercise capacity. *Scientific Reports*, *10*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58662-8>
- Álvarez, R., Vázquez, P., Pérez, F., Jiménez, A., Tirado, A., Irlés, C., González-Serratos, H., & Ortega, A. (2009). Regulation of fast skeletal muscle activity by SERCA1 vicinal-cysteines. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, *30*(1–2), 5. <https://doi.org/10.1007/s10974-008-9156-7>
- Ama Moor, V. J., Pieme, C. A., Chetcha Chemegne, B., Manonji, H., Njinkio Nono, B. L., Tchoula Mamiafo, C., Moukette Moukette, B., Tankeu Nzufu, F., & Tazoacha, A. (2016). Oxidative profile of sickle cell patients in a Cameroonian urban hospital. *BMC Clinical Pathology*, *16*. <https://doi.org/10.1186/s12907-016-0037-5>
- Amann, M., & Calbet, J. A. L. (2008). Convective oxygen transport and fatigue. *Journal of Applied Physiology*, *104*(3), 861–870. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01008.2007>
- Amann, M., & Dempsey, J. A. (2008). Locomotor muscle fatigue modifies central motor drive in healthy humans and imposes a limitation to exercise performance. *The Journal of Physiology*, *586*(Pt 1), 161–173. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.141838>
- Amann, M., Venturelli, M., Ives, S. J., McDaniel, J., Layec, G., Rossman, M. J., & Richardson, R. S. (2013). Peripheral fatigue limits endurance exercise via a sensory feedback-mediated reduction

- in spinal motoneuronal output. *Journal of Applied Physiology*, 115(3), 355–364. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00049.2013>
- Amer, J., Ghoti, H., Rachmilewitz, E., Koren, A., Levin, C., & Fibach, E. (2006). Red blood cells, platelets and polymorphonuclear neutrophils of patients with sickle cell disease exhibit oxidative stress that can be ameliorated by antioxidants. *British Journal of Haematology*, 132(1), 108–113. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05834.x>
- Andersson, D. C., Betzenhauser, M. J., Reiken, S., Meli, A. C., Umanskaya, A., Xie, W., Shiomi, T., Zalk, R., Lacampagne, A., & Marks, A. R. (2011). Ryanodine Receptor Oxidation Causes Intracellular Calcium Leak and Muscle Weakness in Aging. *Cell Metabolism*, 14(2), 196–207. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.05.014>
- Andrade, F. H., Reid, M. B., Allen, D. G., & Westerblad, H. (1998). Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from the mouse. *The Journal of Physiology*, 509(Pt 2), 565–575. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1998.565bn.x>
- Anthi, A., Machado, R. F., Jison, M. L., Taveira-DaSilva, A. M., Rubin, L. J., Hunter, L., Hunter, C. J., Coles, W., Nichols, J., Avila, N. A., Sachdev, V., Chen, C. C., & Gladwin, M. T. (2007). Hemodynamic and Functional Assessment of Patients with Sickle Cell Disease and Pulmonary Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 175(12), 1272–1279. <https://doi.org/10.1164/rccm.200610-1498OC>
- Antwi-Boasiako, C., Dankwah, G. B., Aryee, R., Hayfron-Benjamin, C., Donkor, E. S., & Campbell, A. D. (2019). Oxidative Profile of Patients with Sickle Cell Disease. *Medical Sciences (Basel, Switzerland)*, 7(2). <https://doi.org/10.3390/medsci7020017>
- Arany, Z., Foo, S.-Y., Ma, Y., Ruas, J. L., Bommi-Reddy, A., Girnun, G., Cooper, M., Laznik, D., Chinsomboon, J., Rangwala, S. M., Baek, K. H., Rosenzweig, A., & Spiegelman, B. M. (2008). HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1alpha. *Nature*, 451(7181), 1008–1012. <https://doi.org/10.1038/nature06613>
- Arem, H., Moore, S. C., Patel, A., Hartge, P., de Gonzalez, A. B., Visvanathan, K., Campbell, P. T., Freedman, M., Weiderpass, E., Adami, H. O., Linet, M. S., Lee, I.-M., & Matthews, C. E. (2015). Leisure Time Physical Activity and Mortality: A Detailed Pooled Analysis of the Dose-Response Relationship. *JAMA Internal Medicine*, 175(6), 959–967. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.0533>

- Arena, R., Cahalin, L. P., Borghi-Silva, A., & Phillips, S. A. (2014). Improving functional capacity in heart failure: The need for a multifaceted approach. *Current Opinion in Cardiology*, *29*(5), 467–474. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000092>
- Aslan, M., Thornley-Brown, D., & Freeman, B. A. (2000). Reactive species in sickle cell disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *899*, 375–391. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06201.x>
- Ataga, K. I., Kutlar, A., Kanter, J., Liles, D., Cancado, R., Friedrisch, J., Guthrie, T. H., Knight-Madden, J., Alvarez, O. A., Gordeuk, V. R., Gualandro, S., Colella, M. P., Smith, W. R., Rollins, S. A., Stocker, J. W., & Rother, R. P. (2017). Crizanlizumab for the Prevention of Pain Crises in Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*, *376*(5), 429–439. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1611770>
- Audard, V., Bartolucci, P., & Stehlé, T. (2017). Sickle cell disease and albuminuria: Recent advances in our understanding of sickle cell nephropathy. *Clinical Kidney Journal*, *10*(4), 475–478. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfx027>
- Aufradet, E., Douillard, A., Charrin, E., Romdhani, A., Souza, G. D., Bessaad, A., Faes, C., Bourgeaux, V., Chirico, E. N., Canet-Soulas, E., Pialoux, V., & Martin, C. (2014). Physical activity limits pulmonary endothelial activation in sickle cell SAD mice. *Blood*, *123*(17), 2745–2747. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-534982>
- Babault, N., Desbrosses, K., Fabre, M.-S., Michaut, A., & Pousson, M. (2006). Neuromuscular fatigue development during maximal concentric and isometric knee extensions. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *100*(3), 780–785. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00737.2005>
- Bachasson, D., Wuyam, B., Pepin, J.-L., Tamisier, R., Levy, P., & Verges, S. (2013). Quadriceps and respiratory muscle fatigue following high-intensity cycling in COPD patients. *PloS One*, *8*(12), e83432. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083432>
- Badawy, S. M., Thompson, A. A., Lai, J.-S., Penedo, F. J., Rychlik, K., & Liem, R. I. (2017). Health-related quality of life and adherence to hydroxyurea in adolescents and young adults with sickle cell disease. *Pediatric Blood & Cancer*, *64*(6). <https://doi.org/10.1002/pbc.26369>
- Balayssac-Siransy, E., Connes, P., Tuo, N., Danho, C., Diaw, M., Sanogo, I., Hardy-Dessources, M.-D., Samb, A., Ballas, S. K., & Bogui, P. (2011). Mild haemorheological changes induced by a

- moderate endurance exercise in patients with sickle cell anaemia. *British Journal of Haematology*, 154(3), 398–407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08728.x>
- Ballas, S. K., & Delengowski, A. (1993). Pain measurement in hospitalized adults with sickle cell painful episodes. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 23(5), 358–361.
- Ballas, Samir K., Barton, F. B., Waclawiw, M. A., Swerdlow, P., Eckman, J. R., Pegelow, C. H., Koshy, M., Barton, B. A., & Bonds, D. R. (2006). Hydroxyurea and sickle cell anemia: Effect on quality of life. *Health and Quality of Life Outcomes*, 4, 59. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-4-59>
- Ballas, Samir K., Bauseman, R. L., McCarthy, W. F., Castro, O. L., Smith, W. R., Waclawiw, M. A., & Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. (2010). Hydroxyurea and acute painful crises in sickle cell anemia: Effects on hospital length of stay and opioid utilization during hospitalization, outpatient acute care contacts, and at home. *Journal of Pain and Symptom Management*, 40(6), 870–882. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2010.03.020>
- Ballas, Samir K., & Darbari, D. S. (2013). Neuropathy, neuropathic pain, and sickle cell disease. *American Journal of Hematology*, 88(11), 927–929. <https://doi.org/10.1002/ajh.23575>
- Balog, E. M., & Fitts, R. H. (1996). Effects of fatiguing stimulation on intracellular Na⁺ and K⁺ in frog skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 81(2), 679–685. <https://doi.org/10.1152/jappl.1996.81.2.679>
- Bangsbo, J., Graham, T. E., Kiens, B., & Saltin, B. (1992). Elevated muscle glycogen and anaerobic energy production during exhaustive exercise in man. *The Journal of Physiology*, 451, 205–227. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019161>
- Barabino, G. A., Platt, M. O., & Kaul, D. K. (2010). Sickle cell biomechanics. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 12, 345–367. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-070909-105339>
- Barbeau, P., Woods, K. F., Ramsey, L. T., Litaker, M. S., Pollock, D. M., Pollock, J. S., Callahan, L. A., Kutlar, A., Mensah, G. A., & Gutin, B. (2001). Exercise in sickle cell anemia: Effect on inflammatory and vasoactive mediators. *Endothelium: Journal of Endothelial Cell Research*, 8(2), 147–155.
- Barreiro, E., & Gea, J. (2016). Molecular and biological pathways of skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Chronic Respiratory Disease*, 13(3), 297–311. <https://doi.org/10.1177/1479972316642366>

- Barst, R., Mubarak, K., Machado, R., Ataga, K., Benza, R., Castro, O., Naeije, R., Sood, N., Swerdlow, P., Hildesheim, M., & Gladwin, M. (2010). Exercise Capacity and Hemodynamics in Patients with Sickle Cell Disease with Pulmonary Hypertension Treated with Bosentan: Results of the ASSET studies. *British Journal of Haematology*, *149*(3), 426–435. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08097.x>
- Bartolucci, P., Habibi, A., Stehlé, T., Di Liberto, G., Rakotoson, M. G., Gellen-Dautremer, J., Loric, S., Moutereau, S., Sahali, D., Wagner-Ballon, O., Remy, P., Lang, P., Grimbert, P., Audureau, E., Godeau, B., Galacteros, F., & Audard, V. (2016). Six Months of Hydroxyurea Reduces Albuminuria in Patients with Sickle Cell Disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, *27*(6), 1847–1853. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014111126>
- Bartzeliotou, A. I., Margeli, A. P., Tsironi, M., Skenderi, K., Bacoula, C., Chrousos, G. P., & Papassotiriou, I. (2007). Circulating levels of adhesion molecules and markers of endothelial activation in acute inflammation induced by prolonged brisk exercise. *Clinical Biochemistry*, *40*(11), 765–770. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2007.01.013>
- Baylor, S. M., & Hollingworth, S. (2003). Sarcoplasmic reticulum calcium release compared in slow-twitch and fast-twitch fibres of mouse muscle. *The Journal of Physiology*, *551*(Pt 1), 125–138. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.041608>
- Bedard, K., & Krause, K.-H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, *87*(1), 245–313. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2005>
- Belcher, J. D., Chen, C., Nguyen, J., Milbauer, L., Abdulla, F., Alayash, A. I., Smith, A., Nath, K. A., Hebbel, R. P., & Vercellotti, G. M. (2014). Heme triggers TLR4 signaling leading to endothelial cell activation and vaso-occlusion in murine sickle cell disease. *Blood*, *123*(3), 377–390. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-495887>
- Bellinger, A. M., Reiken, S., Carlson, C., Mongillo, M., Liu, X., Rothman, L., Matecki, S., Lacampagne, A., & Marks, A. R. (2009). Hypernitrosylated ryanodine receptor/calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. *Nature Medicine*, *15*(3), 325–330. <https://doi.org/10.1038/nm.1916>
- Bellinger, A. M., Reiken, S., Dura, M., Murphy, P. W., Deng, S.-X., Landry, D. W., Nieman, D., Lehnart, S. E., Samaru, M., LaCampagne, A., & Marks, A. R. (2008). Remodeling of ryanodine receptor complex causes “leaky” channels: A molecular mechanism for decreased exercise

- capacity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(6), 2198–2202. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711074105>
- Benesch, R., & Benesch, R. E. (1967). The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 26(2), 162–167. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(67\)90228-8](https://doi.org/10.1016/0006-291x(67)90228-8)
- Bergström, J., Hermansen, L., Hultman, E., & Saltin, B. (1967). Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiologica Scandinavica*, 71(2), 140–150. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1967.tb03720.x>
- Bigland-Ritchie, B., Cafarelli, E., & Vøllestad, N. K. (1986). Fatigue of submaximal static contractions. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 556, 137–148.
- Bigland-Ritchie, B., Donovan, E. F., & Roussos, C. S. (1981). Conduction velocity and EMG power spectrum changes in fatigue of sustained maximal efforts. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 51(5), 1300–1305. <https://doi.org/10.1152/jappl.1981.51.5.1300>
- Bigland-Ritchie, B., Johansson, R., Lippold, O. C., & Woods, J. J. (1983). Contractile speed and EMG changes during fatigue of sustained maximal voluntary contractions. *Journal of Neurophysiology*, 50(1), 313–324. <https://doi.org/10.1152/jn.1983.50.1.313>
- Bigland-Ritchie, B., Jones, D. A., Hosking, G. P., & Edwards, R. H. (1978). Central and peripheral fatigue in sustained maximum voluntary contractions of human quadriceps muscle. *Clinical Science and Molecular Medicine*, 54(6), 609–614. <https://doi.org/10.1042/cs0540609>
- Bigland-Ritchie, B., Jones, D. A., & Woods, J. J. (1979). Excitation frequency and muscle fatigue: Electrical responses during human voluntary and stimulated contractions. *Experimental Neurology*, 64(2), 414–427. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(79\)90280-2](https://doi.org/10.1016/0014-4886(79)90280-2)
- Biller, E., Zhao, Y., Berg, M., Boggio, L., Capocelli, K. E., Fang, D. C., Koepsell, S., Music-Aplenc, L., Pham, H. P., Treml, A., Weiss, J., Wool, G., & Baron, B. W. (2018). Red blood cell exchange in patients with sickle cell disease-indications and management: A review and consensus report by the therapeutic apheresis subsection of the AABB. *Transfusion*, 58(8), 1965–1972. <https://doi.org/10.1111/trf.14806>
- Biswal, S., Rizwan, H., Pal, S., Sabnam, S., Parida, P., & Pal, A. (2019). Oxidative stress, antioxidant capacity, biomolecule damage, and inflammation symptoms of sickle cell disease in children.

Hematology (Amsterdam, Netherlands), 24(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1080/10245332.2018.1498441>

- Blain, G. M., Mangum, T. S., Sidhu, S. K., Weavil, J. C., Hureau, T. J., Jessop, J. E., Bledsoe, A. D., Richardson, R. S., & Amann, M. (2016). Group III/IV muscle afferents limit the intramuscular metabolic perturbation during whole body exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 594(18), 5303–5315. <https://doi.org/10.1113/JP272283>
- Blijham, P. J., Hengstman, G. J. D., Ter Laak, H. J., Van Engelen, B. G. M., & Zwarts, M. J. (2004). Muscle-fiber conduction velocity and electromyography as diagnostic tools in patients with suspected inflammatory myopathy: A prospective study. *Muscle & Nerve*, 29(1), 46–50. <https://doi.org/10.1002/mus.10519>
- Block, B. A., Imagawa, T., Campbell, K. P., & Franzini-Armstrong, C. (1988). Structural evidence for direct interaction between the molecular components of the transverse tubule/sarcoplasmic reticulum junction in skeletal muscle. *The Journal of Cell Biology*, 107(6 Pt 2), 2587–2600. <https://doi.org/10.1083/jcb.107.6.2587>
- Bloemberg, D., & Quadrilatero, J. (2012). Rapid Determination of Myosin Heavy Chain Expression in Rat, Mouse, and Human Skeletal Muscle Using Multicolor Immunofluorescence Analysis. *PLOS ONE*, 7(4), e35273. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035273>
- Bogdanis, G. C., Nevill, M. E., Boobis, L. H., & Lakomy, H. K. (1996). Contribution of phosphocreatine and aerobic metabolism to energy supply during repeated sprint exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 80(3), 876–884. <https://doi.org/10.1152/jappl.1996.80.3.876>
- Bookchin, R. M., Balazs, T., & Landau, L. C. (1976). Determinants of red cell sickling. Effects of varying pH and of increasing intracellular hemoglobin concentration by osmotic shrinkage. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 87(4), 597–616.
- Bowen, T. S., Rolim, N. P. L., Fischer, T., Bækkerud, F. H., Medeiros, A., Werner, S., Brønstad, E., Rognmo, O., Mangner, N., Linke, A., Schuler, G., Silva, G. J. J., Wisløff, U., & Adams, V. (2015). Heart failure with preserved ejection fraction induces molecular, mitochondrial, histological, and functional alterations in rat respiratory and limb skeletal muscle. *European Journal of Heart Failure*, 17(3), 263–272. <https://doi.org/10.1002/ejhf.239>
- Brigelius-Flohé, R., & Traber, M. G. (1999). Vitamin E: Function and metabolism. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 13(10), 1145–1155.

- Brousse, V., Buffet, P., & Rees, D. (2014). The spleen and sickle cell disease: The sick(led) spleen. *British Journal of Haematology*, *166*(2), 165–176. <https://doi.org/10.1111/bjh.12950>
- Brownsberger, J., Edwards, A., Crowther, R., & Cottrell, D. (2013). Impact of mental fatigue on self-paced exercise. *International Journal of Sports Medicine*, *34*(12), 1029–1036. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1343402>
- Brozović, M., Davies, S. C., & Brownell, A. I. (1987). Acute admissions of patients with sickle cell disease who live in Britain. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, *294*(6581), 1206–1208. <https://doi.org/10.1136/bmj.294.6581.1206>
- Brugnara, C. (2018). Sickle cell dehydration: Pathophysiology and therapeutic applications. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, *68*(2–3), 187–204. <https://doi.org/10.3233/CH-189007>
- Brun, J. F., Khaled, S., Raynaud, E., Bouix, D., Micallef, J. P., & Orsetti, A. (1998). The triphasic effects of exercise on blood rheology: Which relevance to physiology and pathophysiology? *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, *19*(2), 89–104.
- Bruton, J. D., Lännergren, J., & Westerblad, H. (1998). Effects of CO₂-induced acidification on the fatigue resistance of single mouse muscle fibers at 28 degrees C. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *85*(2), 478–483. <https://doi.org/10.1152/jappl.1998.85.2.478>
- Bruton, Joseph D., Place, N., Yamada, T., Silva, J. P., Andrade, F. H., Dahlstedt, A. J., Zhang, S.-J., Katz, A., Larsson, N.-G., & Westerblad, H. (2008). Reactive oxygen species and fatigue-induced prolonged low-frequency force depression in skeletal muscle fibres of rats, mice and SOD2 overexpressing mice. *The Journal of Physiology*, *586*(1), 175–184. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.147470>
- Buller, N. P., Jones, D., & Poole-Wilson, P. A. (1991). Direct measurement of skeletal muscle fatigue in patients with chronic heart failure. *British Heart Journal*, *65*(1), 20–24. <https://doi.org/10.1136/hrt.65.1.20>
- Calderón, J. C., Bolaños, P., & Caputo, C. (2014). The excitation–contraction coupling mechanism in skeletal muscle. *Biophysical Reviews*, *6*(1), 133–160. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0135-x>
- Callahan, L. A., Woods, K. F., Mensah, G. A., Ramsey, L. T., Barbeau, P., & Gutin, B. (2002). Cardiopulmonary responses to exercise in women with sickle cell anemia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *165*(9), 1309–1316. <https://doi.org/10.1164/rccm.2002036>

- Camera, D. M., Smiles, W. J., & Hawley, J. A. (2016). Exercise-induced skeletal muscle signaling pathways and human athletic performance. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.007>
- Campbell, A., Minniti, C. P., Nouraie, M., Arteta, M., Rana, S., Onyekwere, O., Sable, C., Ensing, G., Dham, N., Luchtman-Jones, L., Kato, G. J., Gladwin, M. T., Castro, O. L., & Gordeuk, V. R. (2009). Prospective evaluation of haemoglobin oxygen saturation at rest and after exercise in paediatric sickle cell disease patients. *British Journal of Haematology*, 147(3), 352–359. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07854.x>
- Cantó, C., & Auwerx, J. (2009). PGC-1alpha, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Current Opinion in Lipidology*, 20(2), 98–105. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328328d0a4>
- Carden, M. A., & Little, J. (2019). Emerging disease-modifying therapies for sickle cell disease. *Haematologica*, 104(9), 1710–1719. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.207357>
- Carpentier, A., Duchateau, J., & Hainaut, K. (2001). Motor unit behaviour and contractile changes during fatigue in the human first dorsal interosseus. *The Journal of Physiology*, 534(Pt 3), 903–912. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.00903.x>
- Castro, O., Hoque, M., & Brown, B. D. (2003). Pulmonary hypertension in sickle cell disease: Cardiac catheterization results and survival. *Blood*, 101(4), 1257–1261. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-03-0948>
- Chaar, V., Picot, J., Renaud, O., Bartolucci, P., Nzouakou, R., Bachir, D., Galactéros, F., Colin, Y., Le Van Kim, C., & El Nemer, W. (2010). Aggregation of mononuclear and red blood cells through an $\alpha 4\beta 1$ -Lu/basal cell adhesion molecule interaction in sickle cell disease. *Haematologica*, 95(11), 1841–1848. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.026294>
- Charache, S. (1993). Pharmacological modification of hemoglobin F expression in sickle cell anemia: An update on hydroxyurea studies. *Experientia*, 49(2), 126–132. <https://doi.org/10.1007/BF01989416>
- Charache, S., Terrin, M. L., Moore, R. D., Dover, G. J., Barton, F. B., Eckert, S. V., McMahon, R. P., & Bonds, D. R. (1995). Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *The New England Journal of Medicine*, 332(20), 1317–1322. <https://doi.org/10.1056/NEJM199505183322001>

- Charlot, K., Romana, M., Moeckesch, B., Jumet, S., Waltz, X., Divialle-Doumdo, L., Hardy-Dessources, M.-D., Petras, M., Tressières, B., Tarer, V., Hue, O., Etienne-Julan, M., Antoine-Jonville, S., & Connes, P. (2016). Which side of the balance determines the frequency of vaso-occlusive crises in children with sickle cell anemia: Blood viscosity or microvascular dysfunction? *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, *56*(1), 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2015.10.005>
- Charlot, K., Waltz, X., Hedreville, M., Sinnapah, S., Lemonne, N., Etienne-Julan, M., Soter, V., Hue, O., Hardy-Dessources, M.-D., & Connes, P. (2015). Impaired oxygen uptake efficiency slope and off-transient kinetics of pulmonary oxygen uptake in sickle cell anemia are associated with hemorheological abnormalities. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, *60*(4), 413–421. <https://doi.org/10.3233/CH-141891>
- Charrin, E., Aufradet, E., Douillard, A., Romdhani, A., Souza, G. D., Bessaad, A., Faes, C., Chirico, E. N., Pialoux, V., & Martin, C. (2015). Oxidative stress is decreased in physically active sickle cell SAD mice. *British Journal of Haematology*, *168*(5), 747–756. <https://doi.org/10.1111/bjh.13207>
- Charrin, E., Dubé, J. J., Connes, P., Pialoux, V., Ghosh, S., Faes, C., Ofori-Acquah, S. F., & Martin, C. (2017). Moderate exercise training decreases inflammation in transgenic sickle cell mice. *Blood Cells, Molecules & Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.06.002>
- Charrin, E., Ofori-Acquah, S. F., Nader, E., Skinner, S., Connes, P., Pialoux, V., Joly, P., & Martin, C. (2016). Inflammatory and oxidative stress phenotypes in transgenic sickle cell mice. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, *62*, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2016.10.020>
- Chatel, B., Hourdé, C., Gondin, J., Fouré, A., Le Fur, Y., Vilmen, C., Bernard, M., Messonnier, L. A., & Bendahan, D. (2017). Impaired muscle force production and higher fatigability in a mouse model of sickle cell disease. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, *63*, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.01.004>
- Chatel, B., Messonnier, L. A., Barge, Q., Vilmen, C., Noirez, P., Bernard, M., Pialoux, V., & Bendahan, D. (2017). Endurance training reduces exercise-induced acidosis and improves muscle function in a mouse model of sickle cell disease. *Molecular Genetics and Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.11.010>
- Chatel, B., Messonnier, L. A., & Bendahan, D. (2017). Exacerbated in vivo metabolic changes suggestive of a spontaneous muscular vaso-occlusive crisis in exercising muscle of a sickle cell

- mouse. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 65, 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.05.006>
- Chatel, B., Messonnier, L. A., & Bendahan, D. (2018). Do we have to consider acidosis induced by exercise as deleterious in sickle cell disease? *Experimental Physiology*, 103(9), 1213–1220. <https://doi.org/10.1113/EP087169>
- Chatel, B., Messonnier, L. A., Hourdé, C., Vilmen, C., Bernard, M., & Bendahan, D. (2017). Moderate and intense muscular exercises induce marked intramyocellular metabolic acidosis in sickle cell disease mice. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, jap.01099.2016. <https://doi.org/10.1152/jap.01099.2016>
- Chaudry, R. A., Bush, A., Rosenthal, M., & Crowley, S. (2013). The impact of sickle cell disease on exercise capacity in children. *Chest*, 143(2), 478–484. <https://doi.org/10.1378/chest.12-0611>
- Cheng, A. J., Place, N., & Westerblad, H. (2018). Molecular Basis for Exercise-Induced Fatigue: The Importance of Strictly Controlled Cellular Ca²⁺ Handling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029710>
- Cheng, A. J., Yamada, T., Rassier, D. E., Andersson, D. C., Westerblad, H., & Lanner, J. T. (2016). Reactive oxygen/nitrogen species and contractile function in skeletal muscle during fatigue and recovery. *The Journal of Physiology*, 594(18), 5149–5160. <https://doi.org/10.1113/JP270650>
- Chin, E. R., Balnave, C. D., & Allen, D. G. (1997). Role of intracellular calcium and metabolites in low-frequency fatigue of mouse skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 272(2), C550–C559. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.272.2.C550>
- Chirico, E. N., Faës, C., Connes, P., Canet-Soulas, E., Martin, C., & Pialoux, V. (2016). Role of Exercise-Induced Oxidative Stress in Sickle Cell Trait and Disease. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 46(5), 629–639. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0447-z>
- Choi, M. H., Ow, J. R., Yang, N.-D., & Taneja, R. (2016). Oxidative Stress-Mediated Skeletal Muscle Degeneration: Molecules, Mechanisms, and Therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6842568>
- Chou, S. T., & Fasano, R. M. (2016). Management of Patients with Sickle Cell Disease Using Transfusion Therapy: Guidelines and Complications. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 30(3), 591–608. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.01.011>
- Clausen, T., Overgaard, K., & Nielsen, O. B. (2004). Evidence that the Na⁺-K⁺ leak/pump ratio contributes to the difference in endurance between fast- and slow-twitch muscles. *Acta*

- Physiologica Scandinavica*, 180(2), 209–216. <https://doi.org/10.1111/j.0001-6772.2003.01251.x>
- Clausen, Torben. (2003). Na⁺-K⁺ pump regulation and skeletal muscle contractility. *Physiological Reviews*, 83(4), 1269–1324. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2003>
- Colombatti, R., Perrotta, S., Samperi, P., Casale, M., Masera, N., Palazzi, G., Sainati, L., & Russo, G. (2013). Organizing national responses for rare blood disorders: The Italian experience with sickle cell disease in childhood. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 8, 169. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-169>
- Connes, P., Alexy, T., Detterich, J., Romana, M., Hardy-Dessources, M.-D., & Ballas, S. K. (2016). The role of blood rheology in sickle cell disease. *Blood Reviews*, 30(2), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2015.08.005>
- Connes, P., Machado, R., Hue, O., & Reid, H. (2011). Exercise limitation, exercise testing and exercise recommendations in sickle cell anemia. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 49(1–4), 151–163. <https://doi.org/10.3233/CH-2011-1465>
- Connes, P., Verlhac, S., & Bernaudin, F. (2013). Advances in understanding the pathogenesis of cerebrovascular vasculopathy in sickle cell anaemia. *British Journal of Haematology*, 161(4), 484–498. <https://doi.org/10.1111/bjh.12300>
- Conran, N., & Costa, F. F. (2009). Hemoglobin disorders and endothelial cell interactions. *Clinical Biochemistry*, 42(18), 1824–1838. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.06.024>
- Conran, N., Franco-Penteado, C. F., & Costa, F. F. (2009). Newer Aspects of the Pathophysiology of Sickle Cell Disease Vaso-Occlusion. *Hemoglobin*, 33(1), 1–16. <https://doi.org/10.1080/03630260802625709>
- Cooke, R., Franks, K., Luciani, G. B., & Pate, E. (1988). The inhibition of rabbit skeletal muscle contraction by hydrogen ions and phosphate. *The Journal of Physiology*, 395, 77–97. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp016909>
- Cooke, R., & Pate, E. (1985). The effects of ADP and phosphate on the contraction of muscle fibers. *Biophysical Journal*, 48(5), 789–798. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(85\)83837-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(85)83837-6)
- Cotel, F., Exley, R., Cragg, S. J., & Perrier, J.-F. (2013). Serotonin spillover onto the axon initial segment of motoneurons induces central fatigue by inhibiting action potential initiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(12), 4774–4779. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216150110>

- Covitz, W., Eubig, C., Balfour, I. C., Jerath, R., Alpert, B. S., Strong, W. B., & DuRant, R. H. (1983). Exercise-induced cardiac dysfunction in sickle cell anemia. A radionuclide study. *The American Journal of Cardiology*, *51*(3), 570–575. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(83\)80099-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(83)80099-x)
- da Guarda, C. C., Yahouédéhou, S. C. M. A., Santiago, R. P., Neres, J. S. dos S., Fernandes, C. F. de L., Aleluia, M. M., Figueiredo, C. V. B., Fiuza, L. M., Carvalho, S. P., de Oliveira, R. M., Fonseca, C. A., Ndidi, U. S., Nascimento, V. M. L., Rocha, L. C., & Goncalves, M. S. (2020). Sickle cell disease: A distinction of two most frequent genotypes (HbSS and HbSC). *PLoS ONE*, *15*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228399>
- Damas, F., Phillips, S., Vechin, F. C., & Ugrinowitsch, C. (2015). A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, *45*(6), 801–807. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0320-0>
- Dantas, J. L., Camata, T. V., Brunetto, M. A. C., Moraes, A. C., Abrão, T., & Altimari, L. R. (2010). Fourier and wavelet spectral analysis of EMG signals in isometric and dynamic maximal effort exercise. *Conference Proceedings: ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference, 2010*, 5979–5982. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2010.5627579>
- Das, B. B., Sobczyk, W., Bertolone, S., & Raj, A. (2008). Cardiopulmonary stress testing in children with sickle cell disease who are on long-term erythrocytapheresis. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, *30*(5), 373–377. <https://doi.org/10.1097/MPH.0b013e318165b298>
- Das, R., Mitra, A., Bhat, V., & Mandal, A. K. (2017). Application of isotope exchange based mass spectrometry to understand the mechanism of inhibition of sickle hemoglobin polymerization upon oxygenation. *Journal of Structural Biology*, *199*(1), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2017.04.009>
- Das, S. K., & Nair, R. C. (1980). Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *British Journal of Haematology*, *44*(1), 87–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1980.tb01186.x>
- Dasuri, K., Zhang, L., & Keller, J. N. (2013). Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radical Biology & Medicine*, *62*, 170–185. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.016>
- Davis, B. A., Allard, S., Qureshi, A., Porter, J. B., Pancham, S., Win, N., Cho, G., Ryan, K., & British Society for Haematology. (2017). Guidelines on red cell transfusion in sickle cell disease Part

- II: Indications for transfusion. *British Journal of Haematology*, 176(2), 192–209. <https://doi.org/10.1111/bjh.14383>
- Day, S. J., & Hulliger, M. (2001). Experimental simulation of cat electromyogram: Evidence for algebraic summation of motor-unit action-potential trains. *Journal of Neurophysiology*, 86(5), 2144–2158. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.86.5.2144>
- De Luca, C. J., & Contessa, P. (2012). Hierarchical control of motor units in voluntary contractions. *Journal of Neurophysiology*, 107(1), 178–195. <https://doi.org/10.1152/jn.00961.2010>
- de Montalembert, M., Girot, R., & Galactéros, F. (2006). [Sickle cell disease in France in 2006: Results and challenges]. *Archives De Pediatrie: Organe Officiel De La Societe Francaise De Pediatrie*, 13(9), 1191–1194. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2006.06.006>
- de Sousa, C. V., Sales, M. M., Rosa, T. S., Lewis, J. E., de Andrade, R. V., & Simões, H. G. (2017). The Antioxidant Effect of Exercise: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 47(2), 277–293. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0566-1>
- Debold, E. P., Dave, H., & Fitts, R. H. (2004). Fiber type and temperature dependence of inorganic phosphate: Implications for fatigue. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 287(3), C673–681. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00044.2004>
- Debold, Edward P. (2012). Recent insights into muscle fatigue at the cross-bridge level. *Frontiers in Physiology*, 3, 151. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00151>
- Del Vecchio, A., Casolo, A., Negro, F., Scorcelletti, M., Bazzucchi, I., Enoka, R., Felici, F., & Farina, D. (2019). The increase in muscle force after 4 weeks of strength training is mediated by adaptations in motor unit recruitment and rate coding. *The Journal of Physiology*, 597(7), 1873–1887. <https://doi.org/10.1113/JP277250>
- Demirci, S., Leonard, A., Haro-Mora, J. J., Uchida, N., & Tisdale, J. F. (2019). CRISPR/Cas9 for Sickle Cell Disease: Applications, Future Possibilities, and Challenges. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1144, 37–52. https://doi.org/10.1007/5584_2018_331
- Demirci, S., Uchida, N., & Tisdale, J. F. (2018). Gene Therapy for Sickle Cell Disease: An Update. *Cytotherapy*, 20(7), 899–910. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2018.04.003>
- Detterich, J. A., Kato, R., Bush, A., Chalacheva, P., Ponce, D., De Zoysa, M., Shah, P., Khoo, M. C., Meiselman, H. J., Coates, T. D., & Wood, J. C. (2019). Sickle cell microvascular paradox-oxygen supply-demand mismatch. *American Journal of Hematology*, 94(6), 678–688. <https://doi.org/10.1002/ajh.25476>

- Dimitrova, N. A., & Dimitrov, G. V. (2003). Interpretation of EMG changes with fatigue: Facts, pitfalls, and fallacies. *Journal of Electromyography and Kinesiology: Official Journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology*, 13(1), 13–36. [https://doi.org/10.1016/s1050-6411\(02\)00083-4](https://doi.org/10.1016/s1050-6411(02)00083-4)
- Dougherty, K. A., Bertolaso, C., Schall, J. I., Smith-Whitley, K., & Stallings, V. A. (2018). Muscle Strength, Power, and Torque Deficits in Children With Type SS Sickle Cell Disease. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000001143>
- Dover, G. J., & Charache, S. (1992). Hydroxyurea induction of fetal hemoglobin synthesis in sickle-cell disease. *Seminars in Oncology*, 19(3 Suppl 9), 61–66.
- Dubert, M., Elion, J., Tolo, A., Diallo, D. A., Diop, S., Diagne, I., Sanogo, I., Belinga, S., Guifo, O., Wamba, G., Ngo Sack, F., Boidy, K., Kamara, I., Traore, Y., Diakite, C. O., Gbonon, V., Faye, B. F., Seck, M., Deme Ly, I., ... Ranque, B. (2017). Degree of anemia, indirect markers of hemolysis, and vascular complications of sickle cell disease in Africa. *Blood*, 130(20), 2215–2223. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-12-755777>
- Duke, A. M., & Steele, D. S. (2001). Mechanisms of reduced SR Ca(2+) release induced by inorganic phosphate in rat skeletal muscle fibers. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 281(2), C418-429. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.2.C418>
- Dutka, T. L., & Lamb, G. D. (2004). Effect of low cytoplasmic [ATP] on excitation-contraction coupling in fast-twitch muscle fibres of the rat. *The Journal of Physiology*, 560(Pt 2), 451–468. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.069112>
- Eaton, W. A., & Bunn, H. F. (2017). Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *Blood*, 129(20), 2719–2726. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-02-765891>
- El-Ghamrawy, M. K., Hanna, W. M., Abdel-Salam, A., El-Sonbaty, M. M., Youness, E. R., Adel, A., El-Ghamrawy, M. K., Hanna, W. M., Abdel-Salam, A., El-Sonbaty, M. M., Youness, E. R., & Adel, A. (2014). Oxidant-antioxidant status in Egyptian children with sickle cell anemia: A single center based study. *Jornal de Pediatria*, 90(3), 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2013.09.005>
- Elmariah, H., Garrett, M. E., De Castro, L. M., Jonassaint, J. C., Ataga, K. I., Eckman, J. R., Ashley-Koch, A. E., & Telen, M. J. (2014). Factors associated with survival in a contemporary adult sickle cell disease cohort. *American Journal of Hematology*, 89(5), 530–535. <https://doi.org/10.1002/ajh.23683>

- Emmel, V. E. (1917). A STUDY OF THE ERYTHROCYTES IN A CASE OF SEVERE ANEMIA WITH ELONGATED AND SICKLE-SHAPED RED BLOOD CORPUSCLES. *Archives of Internal Medicine*, XX(4), 586-NP. <https://doi.org/10.1001/archinte.1917.00090040108005>
- Enoka, R. M., & Duchateau, J. (2008). Muscle fatigue: What, why and how it influences muscle function. *The Journal of Physiology*, 586(Pt 1), 11–23. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.139477>
- Enoka, R. M., & Duchateau, J. (2016). Translating Fatigue to Human Performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 48(11), 2228–2238. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000929>
- Enright, P. L. (2003). The Six-Minute Walk Test. *Respiratory Care*, 48(8), 783–785.
- Ernst, E., Daburger, L., & Saradeth, T. (1991). The kinetics of blood rheology during and after prolonged standardized exercise. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 11(5), 429–439. <https://doi.org/10.3233/CH-1991-11520>
- Evans, D. R., Boggero, I. A., & Segerstrom, S. C. (2016). The nature of self-regulatory fatigue and “ego depletion”: Lessons from physical fatigue. *Personality and Social Psychology Review: An Official Journal of the Society for Personality and Social Psychology, Inc*, 20(4), 291. <https://doi.org/10.1177/1088868315597841>
- Evelo, C. T., Palmen, N. G., Artur, Y., & Janssen, G. M. (1992). Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 64(4), 354–358. <https://doi.org/10.1007/BF00636224>
- Ezekekwu, C. A., Kotila, T. R., Akingbola, T. S., Lettre, G., Gordeuk, V. R., Cooper, R. S., DeBaun, M. R., Inusa, B., & Tayo, B. O. (2018). Sickle Cell Disease Clinical Trials and Phenotypes. *Journal of Tropical Diseases & Public Health*, 6(2). <https://doi.org/10.4172/2329-891X.1000259>
- Ezenwa, M. O., Molokie, R. E., Wang, Z. J., Yao, Y., Suarez, M. L., Pullum, C., Schlaeger, J. M., Fillingim, R. B., & Wilkie, D. J. (2016). Safety and Utility of Quantitative Sensory Testing among Adults with Sickle Cell Disease: Indicators of Neuropathic Pain? *Pain Practice*, 16(3), 282–293. <https://doi.org/10.1111/papr.12279>

- Fabry, M. E., Romero, J. R., Suzuka, S. M., Gilman, J. G., Feeling-Taylor, A., Odunusi, E., Factor, S. M., Bouhassira, E. E., Lawrence, C., & Nagel, R. L. (2000). Hemoglobin C in transgenic mice: Effect of HbC expression from founders to full mouse globin knockouts. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, *26*(4), 331–347. <https://doi.org/10.1006/bcmd.2000.0313>
- Faes, C., Balayssac-Siransy, E., Connes, P., Hivert, L., Danho, C., Bogui, P., Martin, C., & Pialoux, V. (2014). Moderate endurance exercise in patients with sickle cell anaemia: Effects on oxidative stress and endothelial activation. *British Journal of Haematology*, *164*(1), 124–130. <https://doi.org/10.1111/bjh.12594>
- Faes, C., Charrin, E., Connes, P., Pialoux, V., & Martin, C. (2015). Chronic physical activity limits blood rheology alterations in transgenic SAD mice. *American Journal of Hematology*, *90*(2), E32–E33. <https://doi.org/10.1002/ajh.23896>
- Fåhræus, R. (1929). The suspension stability of the blood. *Physiological Reviews*, *9*(2), 241–274. <https://doi.org/10.1152/physrev.1929.9.2.241>
- Fallon, K., Fallon, S., & Boston, T. (2001). The acute phase response and exercise: Court and field sports. *British Journal of Sports Medicine*, *35*(3), 170–173. <https://doi.org/10.1136/bjism.35.3.170>
- Farina, D. (2006). Interpretation of the surface electromyogram in dynamic contractions. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *34*(3), 121–127.
- Farina, D., Merletti, R., & Enoka, R. M. (2014). The extraction of neural strategies from the surface EMG: An update. *Journal of Applied Physiology*, *117*(11), 1215–1230. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00162.2014>
- Farooq, S., Abu Omar, M., & Salzman, G. A. (2018). Acute chest syndrome in sickle cell disease. *Hospital Practice (1995)*, *46*(3), 144–151. <https://doi.org/10.1080/21548331.2018.1464363>
- Ferraro, E., Giammarioli, A. M., Chiandotto, S., Spoletini, I., & Rosano, G. (2014). Exercise-induced skeletal muscle remodeling and metabolic adaptation: Redox signaling and role of autophagy. *Antioxidants & Redox Signaling*, *21*(1), 154–176. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5773>
- Ferster, A., Vermylen, C., Cornu, G., Buyse, M., Corazza, F., Devalck, C., Fondu, P., Toppet, M., & Sariban, E. (1996). Hydroxyurea for treatment of severe sickle cell anemia: A pediatric clinical trial. *Blood*, *88*(6), 1960–1964.
- Fiorenza, M., Hostrup, M., Gunnarsson, T. P., Shirai, Y., Schena, F., Iaia, F. M., & Bangsbo, J. (2019). Neuromuscular Fatigue and Metabolism during High-Intensity Intermittent Exercise. *Medicine*

- and Science in Sports and Exercise*, 51(8), 1642–1652.
<https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001959>
- Flynn, M. G., McFarlin, B. K., & Markofski, M. M. (2007). The Anti-Inflammatory Actions of Exercise Training. *American Journal of Lifestyle Medicine*, 1(3), 220–235.
<https://doi.org/10.1177/1559827607300283>
- Fort, R. (2019). Recommendations for the use of red blood cell exchange in sickle cell disease. *Transfusion and Apheresis Science: Official Journal of the World Apheresis Association: Official Journal of the European Society for Haemapheresis*, 58(2), 128–131.
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.03.004>
- Franzini-Armstrong, C., & Porter, K. R. (1964). SARCOLEMMAL INVAGINATIONS CONSTITUTING THE T SYSTEM IN FISH MUSCLE FIBERS. *The Journal of Cell Biology*, 22, 675–696. <https://doi.org/10.1083/jcb.22.3.675>
- Frenette, P. S. (2002). Sickle cell vaso-occlusion: Multistep and multicellular paradigm. *Current Opinion in Hematology*, 9(2), 101–106. <https://doi.org/10.1097/00062752-200203000-00003>
- Frenette, P. S., & Atweh, G. F. (2007). Sickle cell disease: Old discoveries, new concepts, and future promise. *Journal of Clinical Investigation*, 117(4), 850–858. <https://doi.org/10.1172/JCI30920>
- Frontera, W. R., & Ochala, J. (2015). Skeletal muscle: A brief review of structure and function. *Calcified Tissue International*, 96(3), 183–195. <https://doi.org/10.1007/s00223-014-9915-y>
- Fryer, M. W., Owen, V. J., Lamb, G. D., & Stephenson, D. G. (1995). Effects of creatine phosphate and P(i) on Ca²⁺ movements and tension development in rat skinned skeletal muscle fibres. *The Journal of Physiology*, 482 (Pt 1), 123–140. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020504>
- Fuglevand, A. J., Winter, D. A., Patla, A. E., & Stashuk, D. (1992). Detection of motor unit action potentials with surface electrodes: Influence of electrode size and spacing. *Biological Cybernetics*, 67(2), 143–153. <https://doi.org/10.1007/BF00201021>
- Gandevia, S. C. (2001). Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological Reviews*, 81(4), 1725–1789. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1725>
- Gandevia, S. C., Allen, G. M., Butler, J. E., & Taylor, J. L. (1996). Supraspinal factors in human muscle fatigue: Evidence for suboptimal output from the motor cortex. *The Journal of Physiology*, 490(Pt 2), 529–536.
- Garadah, T., Mandeel, F., Jaradat, A., & Bin Thani, K. (2019). The Effects of Hydroxyurea Therapy on the Six-Minute Walk Distance in Patients with Adult Sickle Cell Anemia: An

- Echocardiographic Study. *Journal of Blood Medicine*, 10, 443–452. <https://doi.org/10.2147/JBM.S203828>
- Gazzoni, M., Farina, D., & Merletti, R. (2004). A new method for the extraction and classification of single motor unit action potentials from surface EMG signals. *Journal of Neuroscience Methods*, 136(2), 165–177. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.01.002>
- Gelfi, C., Vasso, M., & Cerretelli, P. (2011). Diversity of human skeletal muscle in health and disease: Contribution of proteomics. *Journal of Proteomics*, 74(6), 774–795. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.02.028>
- Gellen, B., Messonnier, L. A., Galactéros, F., Audureau, E., Merlet, A. N., Rupp, T., Peyrot, S., Martin, C., Féasson, L., Bartolucci, P., & EXDRE collaborative study group. (2018). Moderate-intensity endurance-exercise training in patients with sickle-cell disease without severe chronic complications (EXDRE): An open-label randomised controlled trial. *The Lancet. Haematology*, 5(11), e554–e562. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(18\)30163-7](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(18)30163-7)
- George, A., Pushkaran, S., Konstantinidis, D. G., Koochaki, S., Malik, P., Mohandas, N., Zheng, Y., Joiner, C. H., & Kalfa, T. A. (2013). Erythrocyte NADPH oxidase activity modulated by Rac GTPases, PKC, and plasma cytokines contributes to oxidative stress in sickle cell disease. *Blood*, 121(11), 2099–2107. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-07-441188>
- Ghosh, S., Adisa, O. A., Chappa, P., Tan, F., Jackson, K. A., Archer, D. R., & Ofori-Acquah, S. F. (2013). Extracellular hemin crisis triggers acute chest syndrome in sickle mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(11), 4809–4820. <https://doi.org/10.1172/JCI64578>
- Gilman, S., & Arbor, A. (1983). Handbook of physiology. Section 1: The nervous system, vol II. Motor control, parts 1 and 2. Section editors: John M. Brookhart and Vernon B. Mountcastle volume editor: Vernon B. Brooks Bethesda, MD, American Physiological Society, 1981 1480 pp, illustrated. *Annals of Neurology*, 13(1), 111–111. <https://doi.org/10.1002/ana.410130130>
- Girard, O., Mendez-Villanueva, A., & Bishop, D. (2011). Repeated-sprint ability - part I: Factors contributing to fatigue. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 41(8), 673–694. <https://doi.org/10.2165/11590550-000000000-00000>
- Gizi, A., Papassotiriou, I., Apostolakou, F., Lazaropoulou, C., Papastamataki, M., Kanavaki, I., Kalotychoy, V., Goussetis, E., Kattamis, A., Rombos, I., & Kanavakis, E. (2011). Assessment of oxidative stress in patients with sickle cell disease: The glutathione system and the oxidant–

- antioxidant status. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 46(3), 220–225.
<https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2011.01.002>
- Gladwin, M. T. (2017). Cardiovascular complications in patients with sickle cell disease. *Hematology: The American Society of Hematology Education Program*, 2017(1), 423–430.
- Gladwin, M. T., Sachdev, V., Jison, M. L., Shizukuda, Y., Plehn, J. F., Minter, K., Brown, B., Coles, W. A., Nichols, J. S., Ernst, I., Hunter, L. A., Blackwelder, W. C., Schechter, A. N., Rodgers, G. P., Castro, O., & Ognibene, F. P. (2004). Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. *The New England Journal of Medicine*, 350(9), 886–895.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa035477>
- Gollnick, P. D., Piehl, K., Saubert, C. W., Armstrong, R. B., & Saltin, B. (1972). Diet, exercise, and glycogen changes in human muscle fibers. *Journal of Applied Physiology*, 33(4), 421–425.
<https://doi.org/10.1152/jappl.1972.33.4.421>
- Gonçalves, C. E. A., Silva, P. O., Soares, M. S., Bunn, P. S., Lima, C. M. A., & Lopes, A. J. (2019). Muscle dysfunction is associated with poorer health-related quality of life in adults with sickle cell anaemia. *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*, 32(1), 43–53.
<https://doi.org/10.3233/BMR-171027>
- Goodman, C. A. (2019). Role of mTORC1 in mechanically induced increases in translation and skeletal muscle mass. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 127(2), 581–590.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01011.2018>
- Gordeuk, V. R., Minniti, C. P., Nouraie, M., Campbell, A. D., Rana, S. R., Luchtman-Jones, L., Sable, C., Dham, N., Ensing, G., Prchal, J. T., Kato, G. J., Gladwin, M. T., & Castro, O. L. (2011). Elevated tricuspid regurgitation velocity and decline in exercise capacity over 22 months of follow up in children and adolescents with sickle cell anemia. *Haematologica*, 96(1), 33–40.
<https://doi.org/10.3324/haematol.2010.030767>
- Graham, R. B., Wachowiak, M. P., & Gurd, B. J. (2015). The Assessment of Muscular Effort, Fatigue, and Physiological Adaptation Using EMG and Wavelet Analysis. *PLoS ONE*, 10(8).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135069>
- Grassi, B., & Quaresima, V. (2016). Near-infrared spectroscopy and skeletal muscle oxidative function in vivo in health and disease: A review from an exercise physiology perspective. *Journal of Biomedical Optics*, 21(9), 091313. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.21.9.091313>

- Grau, M., Nader, E., Jerke, M., Schenk, A., Renoux, C., Dietz, T., Collins, B., Bizjak, D. A., Joly, P., Bloch, W., Prokop, A., & Connes, P. (2019). Impact of A Six Week Training Program on Ventilatory Efficiency, Red Blood Cell Rheological Parameters and Red Blood Cell Nitric Oxide Signaling in Young Sickle Cell Anemia Patients: A Pilot Study. *Journal of Clinical Medicine*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/jcm8122155>
- Gray, A., Anionwu, E. N., Davies, S. C., & Brozovic, M. (1991). Patterns of mortality in sickle cell disease in the United Kingdom. *Journal of Clinical Pathology*, 44(6), 459–463.
- Green, D. J., Spence, A., Halliwill, J. R., Cable, N. T., & Thijssen, D. H. J. (2011). Exercise and vascular adaptation in asymptomatic humans. *Experimental Physiology*, 96(2), 57–70. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.048694>
- Griguer, C. E., Oliva, C. R., Kelley, E. E., Giles, G. I., Lancaster, J. R., & Gillespie, G. Y. (2006). Xanthine Oxidase–Dependent Regulation of Hypoxia-Inducible Factor in Cancer Cells. *Cancer Research*, 66(4), 2257–2263. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3364>
- Gruet, M., Temesi, J., Rupp, T., Levy, P., Millet, G. Y., & Verges, S. (2013). Stimulation of the motor cortex and corticospinal tract to assess human muscle fatigue. *Neuroscience*, 231, 384–399. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.10.058>
- Gueye Tall, F., Martin, C., Ndour, E. hadji M., Faes, C., Dème Ly, I., Pialoux, V., Connes, P., Gueye, P. M., Ndiaye Diallo, R., Renoux, C., Diagne, I., Diop, P. A., Cissé, A., Sall, P. L., & Joly, P. (2020). Influence of Oxidative Stress Biomarkers and Genetic Polymorphisms on the Clinical Severity of Hydroxyurea-Free Senegalese Children with Sickle Cell Anemia. *Antioxidants*, 9(9), 863. <https://doi.org/10.3390/antiox9090863>
- Guzy, R. D., Hoyos, B., Robin, E., Chen, H., Liu, L., Mansfield, K. D., Simon, M. C., Hammerling, U., & Schumacker, P. T. (2005). Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and cellular oxygen sensing. *Cell Metabolism*, 1(6), 401–408. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2005.05.001>
- Guzy, R. D., & Schumacker, P. T. (2006). Oxygen sensing by mitochondria at complex III: The paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Experimental Physiology*, 91(5), 807–819. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.033506>
- Hackney, A. C., Hezier, W., Gullledge, T. P., Jones, S., Strayhorn, D., Busby, M., Hoffman, E., & Orringer, E. P. (1997). Effects of hydroxyurea administration on the body weight, body

- composition and exercise performance of patients with sickle-cell anaemia. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 92(5), 481–486.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Hannemann, A., Weiss, E., Rees, D. C., Dalibalta, S., Ellory, J. C., & Gibson, J. S. (2011). The Properties of Red Blood Cells from Patients Heterozygous for HbS and HbC (HbSC Genotype). *Anemia*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/248527>
- Hassan, W., Ibrahim, M., & Rocha, J. B. T. (2009). Low pH does not modulate antioxidant status of diphenyl ditelluride but exacerbates Fe (II)-induced lipid peroxidation in liver preparation. *Drug and Chemical Toxicology*, 32(4), 438–442. <https://doi.org/10.1080/01480540903127332>
- Hautier, C. A., Arzac, L. M., Deghdegh, K., Souquet, J., Belli, A., & Lacour, J. R. (2000). Influence of fatigue on EMG/force ratio and cocontraction in cycling. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(4), 839–843. <https://doi.org/10.1097/00005768-200004000-00017>
- Hawley, J. A., Lundby, C., Cotter, J. D., & Burke, L. M. (2018). Maximizing Cellular Adaptation to Endurance Exercise in Skeletal Muscle. *Cell Metabolism*, 27(5), 962–976. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.04.014>
- Hebbel, R. P., Yamada, O., Moldow, C. F., Jacob, H. S., White, J. G., & Eaton, J. W. (1980). Abnormal adherence of sickle erythrocytes to cultured vascular endothelium: Possible mechanism for microvascular occlusion in sickle cell disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 65(1), 154–160. <https://doi.org/10.1172/JCI109646>
- Hebbel, Robert P. (2011). Reconstructing sickle cell disease: A data-based analysis of the ‘hyperhemolysis paradigm’ for pulmonary hypertension from the perspective of evidence-based medicine. *American Journal of Hematology*, 86(2), 123–154. <https://doi.org/10.1002/ajh.21952>
- Heckman, C. J., & Enoka, R. M. (2012). Motor unit. *Comprehensive Physiology*, 2(4), 2629–2682. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100087>
- Hedreville, M., Charlot, K., Waltz, X., Sinnapah, S., Lemonne, N., Etienne-Julan, M., Soter, V., Hue, O., Hardy-Dessources, M.-D., Barthélémy, J.-C., & Connes, P. (2014). Acute Moderate Exercise Does Not Further Alter the Autonomic Nervous System Activity in Patients with Sickle Cell Anemia. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095563>

- Hendrican, M. C., McKelvie, R. S., Smith, T., McCartney, N., Pogue, J., Teo, K. K., & Yusuf, S. (2000). Functional capacity in patients with congestive heart failure. *Journal of Cardiac Failure*, 6(3), 214–219. <https://doi.org/10.1054/jcaf.2000.8830>
- Henneman, E. (1957). Relation between size of neurons and their susceptibility to discharge. *Science (New York, N.Y.)*, 126(3287), 1345–1347. <https://doi.org/10.1126/science.126.3287.1345>
- Henríquez-Olguín, C., Díaz-Vegas, A., Utreras-Mendoza, Y., Campos, C., Arias-Calderón, M., Llanos, P., Contreras-Ferrat, A., Espinosa, A., Altamirano, F., Jaimovich, E., & Valladares, D. M. (2016). NOX2 Inhibition Impairs Early Muscle Gene Expression Induced by a Single Exercise Bout. *Frontiers in Physiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00282>
- Hermansen, L., Hultman, E., & Saltin, B. (1967). Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 71(2), 129–139. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1967.tb03719.x>
- Herrick, J. B. (2001). Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. 1910. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 74(3), 179–184.
- Hierso, R., Waltz, X., Mora, P., Romana, M., Lemonne, N., Connes, P., & Hardy-Dessources, M.-D. (2014). Effects of oxidative stress on red blood cell rheology in sickle cell patients. *British Journal of Haematology*, 166(4), 601–606. <https://doi.org/10.1111/bjh.12912>
- Higashi, Y., Sasaki, S., Kurisu, S., Yoshimizu, A., Sasaki, N., Matsuura, H., Kajiyama, G., & Oshima, T. (1999). Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: Role of endothelium-derived nitric oxide. *Circulation*, 100(11), 1194–1202. <https://doi.org/10.1161/01.cir.100.11.1194>
- Hill, C. A., Thompson, M. W., Ruell, P. A., Thom, J. M., & White, M. J. (2001). Sarcoplasmic reticulum function and muscle contractile character following fatiguing exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 531(3), 871–878. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0871h.x>
- Hoar, P. E., Mahoney, C. W., & Kerrick, W. G. (1987). MgADP- increases maximum tension and Ca²⁺ sensitivity in skinned rabbit soleus fibers. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 410(1–2), 30–36. <https://doi.org/10.1007/BF00581892>
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*, 117(4), 500–544. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1952.sp004764>

- Holmes, K. C., & Geeves, M. A. (2000). The structural basis of muscle contraction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355(1396), 419–431.
- Hoover, R., Rubin, R., Wise, G., & Warren, R. (1979). Adhesion of normal and sickle erythrocytes to endothelial monolayer cultures. *Blood*, 54(4), 872–876.
- Hostyn, S. V., Carvalho, W. B. de, Johnston, C., & Braga, J. A. P. (2013). Evaluation of functional capacity for exercise in children and adolescents with sickle-cell disease through the six-minute walk test. *Jornal De Pediatria*, 89(6), 588–594. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2013.04.005>
- Howard, J., Hemmaway, C. J., Telfer, P., Layton, D. M., Porter, J., Awogbade, M., Mant, T., Gretler, D. D., Dufu, K., Hutchaleelaha, A., Patel, M., Siu, V., Dixon, S., Landsman, N., Tonda, M., & Lehrer-Graiwer, J. (2019). A phase 1/2 ascending dose study and open-label extension study of voxelotor in patients with sickle cell disease. *Blood*, 133(17), 1865–1875. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-08-868893>
- Hunter, S. K. (2018). Performance Fatigability: Mechanisms and Task Specificity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(7). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029728>
- Hunter, S. K., Duchateau, J., & Enoka, R. M. (2004). Muscle fatigue and the mechanisms of task failure. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 32(2), 44–49. <https://doi.org/10.1097/00003677-200404000-00002>
- Hureau, T. J., Romer, L. M., & Amann, M. (2018). The ‘sensory tolerance limit’: A hypothetical construct determining exercise performance? *European Journal of Sport Science*, 18(1), 13–24. <https://doi.org/10.1080/17461391.2016.1252428>
- Huxley, A. F., & Niedergerke, R. (1954). Structural changes in muscle during contraction; interference microscopy of living muscle fibres. *Nature*, 173(4412), 971–973. <https://doi.org/10.1038/173971a0>
- Huxley, H., & Hanson, J. (1954). Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature*, 173(4412), 973–976. <https://doi.org/10.1038/173973a0>
- Imlay, J. A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annual Review of Microbiology*, 57, 395–418. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090938>
- Ingram, V. M. (1956). A Specific Chemical Difference Between the Globins of Normal Human and Sickle-Cell Anæmia Hæmoglobin. *Nature*, 178(4537), 792–794. <https://doi.org/10.1038/178792a0>

- Ingram, V. M. (1957). Gene Mutations in Human Hæmoglobin: The Chemical Difference Between Normal and Sickle Cell Hæmoglobin. *Nature*, *180*(4581), 326–328. <https://doi.org/10.1038/180326a0>
- Inoue, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Park, A.-M., Kira, Y., Imada, I., & Utsumi, K. (2003). Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current Medicinal Chemistry*, *10*(23), 2495–2505. <https://doi.org/10.2174/0929867033456477>
- Inzlicht, M., & Marcora, S. M. (2016). The Central Governor Model of Exercise Regulation Teaches Us Precious Little about the Nature of Mental Fatigue and Self-Control Failure. *Frontiers in Psychology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.00656>
- Ishii, T., Sunami, O., Saitoh, N., Nishio, H., Takeuchi, T., & Hata, F. (1998). Inhibition of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase by nitric oxide. *FEBS Letters*, *440*(1–2), 218–222. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(98\)01460-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)01460-4)
- Jackson, M. J., Vasilaki, A., & McArdle, A. (2016). Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, *98*, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.023>
- Jacob, E. (2001). The pain experience of patients with sickle cell anemia. *Pain Management Nursing: Official Journal of the American Society of Pain Management Nurses*, *2*(3), 74–83. <https://doi.org/10.1053/jpmn.2001.26119>
- Jagadeeswaran, R., Vazquez, B. A., Thirupathi, M., Ganesh, B. B., Ibanez, V., Cui, S., Engel, J. D., Diamond, A. M., Molokie, R. E., DeSimone, J., Lavelle, D., & Rivers, A. (2017). Pharmacological inhibition of LSD1 and mTOR reduces mitochondrial retention and associated ROS levels in the red blood cells of sickle cell disease. *Experimental Hematology*, *50*, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2017.02.003>
- Jain, D. L., Sarathi, V., Desai, S., Bhatnagar, M., & Lodha, A. (2012). Low fixed-dose hydroxyurea in severely affected Indian children with sickle cell disease. *Hemoglobin*, *36*(4), 323–332. <https://doi.org/10.3109/03630269.2012.697948>
- Jenny, A. B., & Inukai, J. (1983). Principles of motor organization of the monkey cervical spinal cord. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *3*(3), 567–575.

- Johnson, K. V. B., Edwards, S. C., Van Tongeren, C., & Bawa, P. (2004). Properties of human motor units after prolonged activity at a constant firing rate. *Experimental Brain Research*, *154*(4), 479–487. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1678-z>
- Jones-Lecointe, A., Smith, E., Romana, M., Gilbert, M.-G., Charles, W. P., Saint-Martin, C., & Kéclard, L. (2008). Beta-globin gene cluster haplotypes and alpha-thalassemia in sickle cell disease patients from Trinidad. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council*, *20*(3), 342–344. <https://doi.org/10.1002/ajhb.20732>
- Juel, C. (1986). Potassium and sodium shifts during in vitro isometric muscle contraction, and the time course of the ion-gradient recovery. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, *406*(5), 458–463. <https://doi.org/10.1007/BF00583367>
- Kabbara, A. A., & Allen, D. G. (1999). The role of calcium stores in fatigue of isolated single muscle fibres from the cane toad. *The Journal of Physiology*, *519 Pt 1*, 169–176. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.01690.x>
- Kang, C., Chung, E., Diffie, G., & Ji, L. L. (2013). Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: Role of PGC-1 α . *Experimental Gerontology*, *48*(11), 1343–1350. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2013.08.004>
- Kassim, A. A., & Sharma, D. (2017). Hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease: The changing landscape. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*, *10*(4), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2017.05.008>
- Kato, G. J., Gladwin, M. T., & Steinberg, M. H. (2007). Deconstructing sickle cell disease: Reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Reviews*, *21*(1), 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2006.07.001>
- Kato, G. J., Piel, F. B., Reid, C. D., Gaston, M. H., Ohene-Frempong, K., Krishnamurti, L., Smith, W. R., Panepinto, J. A., Weatherall, D. J., Costa, F. F., & Vichinsky, E. P. (2018). Sickle cell disease. *Nature Reviews. Disease Primers*, *4*, 18010. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>
- Kato, G. J., Steinberg, M. H., & Gladwin, M. T. (2017). Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *The Journal of Clinical Investigation*, *127*(3), 750–760. <https://doi.org/10.1172/JCI89741>
- Kaul, D. K., Fabry, M. E., Costantini, F., Rubin, E. M., & Nagel, R. L. (1995). In vivo demonstration of red cell-endothelial interaction, sickling and altered microvascular response to oxygen in the

- sickle transgenic mouse. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(6), 2845–2853.
<https://doi.org/10.1172/JCI118355>
- Kaul, Dhananjay K., Finnegan, E., & Barabino, G. A. (2009). Sickle Red Cell—Endothelium Interactions. *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)*, 16(1), 97–111.
<https://doi.org/10.1080/10739680802279394>
- Kéclard, L., Romana, M., Lavocat, E., Saint-Martin, C., Berchel, C., & Mérault, G. (1997). Sickle cell disorder, β -globin gene cluster haplotypes and α -thalassemia in neonates and adults from Guadeloupe. *American Journal of Hematology*, 55(1), 24–27.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8652\(199705\)55:1<24::AID-AJH4>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8652(199705)55:1<24::AID-AJH4>3.0.CO;2-5)
- Kehrer, J. P. (2000). The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, 149(1), 43–50.
[https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(00\)00231-6](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00231-6)
- Kellum, J. A., Song, M., & Li, J. (2004). Science review: Extracellular acidosis and the immune response: clinical and physiologic implications. *Critical Care*, 8(5), 331–336.
<https://doi.org/10.1186/cc2900>
- Klass, M., Lévénez, M., Enoka, R. M., & Duchateau, J. (2008). Spinal mechanisms contribute to differences in the time to failure of submaximal fatiguing contractions performed with different loads. *Journal of Neurophysiology*, 99(3), 1096–1104. <https://doi.org/10.1152/jn.01252.2007>
- Kollmitzer, J., Ebenbichler, G. R., & Kopf, A. (1999). Reliability of surface electromyographic measurements. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 110(4), 725–734. [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(98\)00050-9](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(98)00050-9)
- Komi, P. V., & Tesch, P. (1979). EMG frequency spectrum, muscle structure, and fatigue during dynamic contractions in man. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 42(1), 41–50. <https://doi.org/10.1007/BF00421103>
- Konrad, P. (2005). *The ABC of EMG: A Practical Introduction to Kinesiological Electromyography*. – *ScienceOpen*. <https://www.scienceopen.com/document?vid=a0604ccc-6b14-4586-bb50-dff58b04e859>
- Korthuis, R. J. (2011). *Skeletal Muscle Circulation*. Morgan & Claypool Life Sciences.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK57141/>
- Labie, D., & Elion, J. (2005). Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC - Hématologie*, 2(4), 220–239.
<https://doi.org/10.1016/j.emch.2005.10.001>

- Lamarre, Y., Romana, M., Waltz, X., Lalanne-Mistrih, M.-L., Tressières, B., Divialle-Doumido, L., Hardy-Dessources, M.-D., Vent-Schmidt, J., Petras, M., Broquere, C., Maillard, F., Tarer, V., Etienne-Julan, M., & Connes, P. (2012). Hemorheological risk factors of acute chest syndrome and painful vaso-occlusive crisis in children with sickle cell disease. *Haematologica*, *97*(11), 1641–1647. <https://doi.org/10.3324/haematol.2012.066670>
- Lambert, E. V., Gibson, A. S. C., & Noakes, T. D. (2005). Complex systems model of fatigue: Integrative homeostatic control of peripheral physiological systems during exercise in humans. *British Journal of Sports Medicine*, *39*(1), 52–62. <https://doi.org/10.1136/bjism.2003.011247>
- Laughlin, M. H., Simpson, T., Sexton, W. L., Brown, O. R., Smith, J. K., & Korthuis, R. J. (1990). Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *68*(6), 2337–2343.
- Laver, D. R., Eager, K. R., Taoube, L., & Lamb, G. D. (2000). Effects of cytoplasmic and luminal pH on Ca(2+) release channels from rabbit skeletal muscle. *Biophysical Journal*, *78*(4), 1835–1851. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76733-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76733-6)
- Lavin, K. M., Perkins, R. K., Jemiolo, B., Raue, U., Trappe, S. W., & Trappe, T. A. (2020). Effects of aging and lifelong aerobic exercise on basal and exercise-induced inflammation. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *128*(1), 87–99. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00495.2019>
- Lavine, K. J., & Sierra, O. L. (2017). Skeletal Muscle Inflammation and Atrophy in Heart Failure. *Heart Failure Reviews*, *22*(2), 179–189. <https://doi.org/10.1007/s10741-016-9593-0>
- Le Moal, E., Pialoux, V., Juban, G., Groussard, C., Zouhal, H., Chazaud, B., & Mounier, R. (2017). Redox Control of Skeletal Muscle Regeneration. *Antioxidants & Redox Signaling*, *27*(5), 276–310. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6782>
- Lehrer-Graiwer, J., Howard, J., Hemmaway, C. J., Awogbade, M., Telfer, P., Layton, M., Mant, T., Dufu, K., Hutchaleelaha, A., Koller, T., Oksenberg, D., Patel, M., & Ramos, E. (2015). GBT440, a Potent Anti-Sickling Hemoglobin Modifier Reduces Hemolysis, Improves Anemia and Nearly Eliminates Sick Cells in Peripheral Blood of Patients with Sickle Cell Disease. *Blood*, *126*(23), 542–542. <https://doi.org/10.1182/blood.V126.23.542.542>
- Lemonne, N., Lamarre, Y., Romana, M., Hardy-Dessources, M.-D., Lionnet, F., Waltz, X., Tarer, V., Mougénel, D., Tressières, B., Lalanne-Mistrih, M.-L., Etienne-Julan, M., & Connes, P. (2014). Impaired blood rheology plays a role in the chronic disorders associated with sickle cell-

- hemoglobin C disease. *Haematologica*, 99(5), 74–75.
<https://doi.org/10.3324/haematol.2014.104745>
- Lemonne, N., Romana, M., Lamarre, Y., Hardy-Dessources, M.-D., Lionnet, F., Waltz, X., Tarer, V., Mouguel, D., Tressières, B., Lalanne-Mistrih, M.-L., Etienne-Julan, M., & Connes, P. (2014). Association between relative systemic hypertension and otologic disorders in patients with sickle cell-hemoglobin C disorder. *American Journal of Hematology*, 89(6), 667–667.
<https://doi.org/10.1002/ajh.23717>
- Liem, R. I., Onyejekwe, K., Olszewski, M., Nchekwube, C., Zaldivar, F. P., Radom-Aizik, S., Rodeghier, M. J., & Thompson, A. A. (2015). The Acute Phase Inflammatory Response to Maximal Exercise Testing in Children and Young Adults with Sickle Cell Anaemia. *British Journal of Haematology*, 171(5), 854–861. <https://doi.org/10.1111/bjh.13782>
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Linke, A., Schoene, N., Gielen, S., Hofer, J., Erbs, S., Schuler, G., & Hambrecht, R. (2001). Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: Systemic effects of lower-limb exercise training. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(2), 392–397.
[https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(00\)01108-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(00)01108-6)
- Lionnet, F., Hammoudi, N., Stojanovic, K. S., Avellino, V., Grateau, G., Girot, R., & Haymann, J.-P. (2012). Hemoglobin sickle cell disease complications: A clinical study of 179 cases. *Haematologica*, 97(8), 1136–1141. <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.055202>
- Lionnet, F., Hammoudi, N., Stojanovic, K. S., Avellino, V., Grateau, G., Girot, R., & Haymann, J.-P. (2016). Iron restriction is an important treatment of hemoglobin SC disease. *American Journal of Hematology*, 91(7), E320. <https://doi.org/10.1002/ajh.24380>
- Lixandrão, M. E., Ugrinowitsch, C., Berton, R., Vechin, F. C., Conceição, M. S., Damas, F., Libardi, C. A., & Roschel, H. (2018). Magnitude of Muscle Strength and Mass Adaptations Between High-Load Resistance Training Versus Low-Load Resistance Training Associated with Blood-Flow Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 48(2), 361–378. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0795-y>
- Londhe, P., & Guttridge, D. C. (2015). Inflammation induced loss of skeletal muscle. *Bone*, 80, 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.03.015>

- Lowery, M., Nolan, P., & O'Malley, M. (2002). Electromyogram median frequency, spectral compression and muscle fibre conduction velocity during sustained sub-maximal contraction of the brachioradialis muscle. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, *12*(2), 111–118. [https://doi.org/10.1016/S1050-6411\(02\)00004-4](https://doi.org/10.1016/S1050-6411(02)00004-4)
- Luca, C. J. D. (1985). *Muscles Alive: Their Functions Revealed by Electromyography*. Williams & Wilkins.
- Luca, C. J. D. (1997). The Use of Surface Electromyography in Biomechanics. *Journal of Applied Biomechanics*, *13*(2), 135–163. <https://doi.org/10.1123/jab.13.2.135>
- Luchtman-Jones, L., Pressel, S., Hilliard, L., Brown, R. C., Smith, M. G., Thompson, A. A., Lee, M. T., Rothman, J., Rogers, Z. R., Owen, W., Imran, H., Thornburg, C., Kwiatkowski, J. L., Aygun, B., Nelson, S., Roberts, C., Gauger, C., Piccone, C., Kalfa, T., ... Ware, R. E. (2016). Effects of hydroxyurea treatment for patients with hemoglobin SC disease. *American Journal of Hematology*, *91*(2), 238–242. <https://doi.org/10.1002/ajh.24255>
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, *101*(1), 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- Lushchak, V. I. (2012, February 28). *Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions* [Review Article]. *Journal of Amino Acids*; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2012/736837>
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, *224*, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>
- Lymn, R. W., & Taylor, E. W. (1971). Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. *Biochemistry*, *10*(25), 4617–4624. <https://doi.org/10.1021/bi00801a004>
- MacDonald, R. (1977). Red cell 2,3-diphosphoglycerate and oxygen affinity. *Anaesthesia*, *32*(6), 544–553. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1977.tb10002.x>
- Machado, R. F., Martyr, S., Kato, G. J., Barst, R. J., Anthi, A., Robinson, M. R., Hunter, L., Coles, W., Nichols, J., Hunter, C., Sachdev, V., Castro, O., & Gladwin, M. T. (2005). Sildenafil therapy in patients with sickle cell disease and pulmonary hypertension. *British Journal of Haematology*, *130*(3), 445–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05625.x>
- MacMahon, C., Schücker, L., Hagemann, N., & Strauss, B. (2014). Cognitive fatigue effects on physical performance during running. *Journal of Sport & Exercise Psychology*, *36*(4), 375–381. <https://doi.org/10.1123/jsep.2013-0249>

- Maiorana, A., O'Driscoll, G., Dembo, L., Cheetham, C., Goodman, C., Taylor, R., & Green, D. (2000). Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 279(4), H1999-2005. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.4.H1999>
- Manfredini, V., Lazzaretti, L. L., Griebeler, I. H., Santin, A. P., Brandão, V. D. M., Wagner, S., Castro, S. M., Peralba, M. do C. R., & Benfato, M. S. (2008). Blood antioxidant parameters in sickle cell anemia patients in steady state. *Journal of the National Medical Association*, 100(8), 897–902. [https://doi.org/10.1016/s0027-9684\(15\)31402-4](https://doi.org/10.1016/s0027-9684(15)31402-4)
- Marcora, S. (2009). Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. *Journal of Applied Physiology*, 106(6), 2060–2062. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90378.2008>
- Marcora, Samuele M., Staiano, W., & Manning, V. (2009). Mental fatigue impairs physical performance in humans. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 106(3), 857–864. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91324.2008>
- Marcora, Samuele Maria, & Staiano, W. (2010). The limit to exercise tolerance in humans: Mind over muscle? *European Journal of Applied Physiology*, 109(4), 763–770. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1418-6>
- Marieb, E. (1998). *Anatomie et Physiologie humaine* (De Boeck).
- Mark Burden, A., Lewis, S. E., & Willcox, E. (2014). The effect of manipulating root mean square window length and overlap on reliability, inter-individual variability, statistical significance and clinical relevance of electromyograms. *Manual Therapy*, 19(6), 595–601. <https://doi.org/10.1016/j.math.2014.06.003>
- Marotta, C. A., Wilson, J. T., Forget, B. G., & Weissman, S. M. (1977). Human beta-globin messenger RNA. III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. *Journal of Biological Chemistry*, 252(14), 5040–5053.
- Martin, C., Pialoux, V., Faes, C., Charrin, E., Skinner, S., & Connes, P. (2015). Does physical activity increase or decrease the risk of sickle cell disease complications? *British Journal of Sports Medicine*. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2015-095317>
- Martin, K., Thompson, K. G., Keegan, R., Ball, N., & Rattray, B. (2015). Mental fatigue does not affect maximal anaerobic exercise performance. *European Journal of Applied Physiology*, 115(4), 715–725. <https://doi.org/10.1007/s00421-014-3052-1>

- Masuda, K., Masuda, T., Sadoyama, T., Mitsuharu Inaki, & Katsuta, S. (1999). Changes in surface EMG parameters during static and dynamic fatiguing contractions. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, *9*(1), 39–46. [https://doi.org/10.1016/S1050-6411\(98\)00021-2](https://doi.org/10.1016/S1050-6411(98)00021-2)
- Matsui, N. M., Borsig, L., Rosen, S. D., Yaghamai, M., Varki, A., & Embury, S. H. (2001). P-selectin mediates the adhesion of sickle erythrocytes to the endothelium. *Blood*, *98*(6), 1955–1962. <https://doi.org/10.1182/blood.v98.6.1955>
- Matsui, Neil M., Varki, A., & Embury, S. H. (2002). Heparin inhibits the flow adhesion of sickle red blood cells to P-selectin. *Blood*, *100*(10), 3790–3796. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-02-0626>
- Matsunaga, S., Inashima, S., Yamada, T., Watanabe, H., Hazama, T., & Wada, M. (2003). Oxidation of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase induced by high-intensity exercise. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, *446*(3), 394–399. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1040-0>
- Mattusch, F., Dufaux, B., Heine, O., Mertens, I., & Rost, R. (2000). Reduction of the plasma concentration of C-reactive protein following nine months of endurance training. *International Journal of Sports Medicine*, *21*(1), 21–24. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8852>
- McGann, P. T., & Ware, R. E. (2015). Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. *Expert Opinion on Drug Safety*, *14*(11), 1749–1758. <https://doi.org/10.1517/14740338.2015.1088827>
- McGinnis, P. M. (2005). *Biomechanics of Sport and Exercise*. Human Kinetics.
- McLeod, J. C., Stokes, T., & Phillips, S. M. (2019). Resistance Exercise Training as a Primary Countermeasure to Age-Related Chronic Disease. *Frontiers in Physiology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00645>
- McNamee, A. P., Horobin, J. T., Tansley, G. D., & Simmonds, M. J. (2018). Oxidative Stress Increases Erythrocyte Sensitivity to Shear-Mediated Damage. *Artificial Organs*, *42*(2), 184–192. <https://doi.org/10.1111/aor.12997>
- Meissner, G. (2017). The structural basis of ryanodine receptor ion channel function. *The Journal of General Physiology*, *149*(12), 1065–1089. <https://doi.org/10.1085/jgp.201711878>
- Mena, P., Maynar, M., Gutierrez, J. M., Maynar, J., Timon, J., & Campillo, J. E. (1991). Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *International Journal of Sports Medicine*, *12*(6), 563–566. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1024734>

- Mendez-Villanueva, A., Edge, J., Suriano, R., Hamer, P., & Bishop, D. (2012). The Recovery of Repeated-Sprint Exercise Is Associated with PCr Resynthesis, while Muscle pH and EMG Amplitude Remain Depressed. *PLoS ONE*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051977>
- Merkel, K. H., Ginsberg, P. L., Parker, J. C., & Post, M. J. (1978). Cerebrovascular disease in sickle cell anemia: A clinical, pathological and radiological correlation. *Stroke*, 9(1), 45–52. <https://doi.org/10.1161/01.str.9.1.45>
- Merlet, A. N., Chatel, B., Hourdé, C., Ravelojaona, M., Bendahan, D., Féasson, L., & Messonnier, L. A. (2018). How Sickle Cell Disease Impairs Skeletal Muscle Function: Implications in Daily Life. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001757>
- Merlet, A. N., Féasson, L., Bartolucci, P., Hourdé, C., Schwalm, C., Gellen, B., Galactéros, F., Deldicque, L., Francaux, M., Messonnier, L. A., & EXDRE collaborative study group. (2020). Muscle structural, energetic and functional benefits of endurance exercise training in sickle cell disease. *American Journal of Hematology*. <https://doi.org/10.1002/ajh.25936>
- Merlet, A. N., Messonnier, L. A., Coudy-Gandilhon, C., Béchet, D., Gellen, B., Rupp, T., Galactéros, F., Bartolucci, P., & Féasson, L. (2019). Beneficial effects of endurance exercise training on skeletal muscle microvasculature in sickle cell disease patients. *Blood*, 134(25), 2233–2241. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001055>
- Merry, T. L., & Ristow, M. (2016). Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (NFE2L2, Nrf2) mediates exercise-induced mitochondrial biogenesis and the anti-oxidant response in mice. *The Journal of Physiology*, 594(18), 5195–5207. <https://doi.org/10.1113/JP271957>
- Metzger, J. M. (1996). Effects of phosphate and ADP on shortening velocity during maximal and submaximal calcium activation of the thin filament in skeletal muscle fibers. *Biophysical Journal*, 70(1), 409–417. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79584-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79584-X)
- Mezzani, A. (2017). Cardiopulmonary Exercise Testing: Basics of Methodology and Measurements. *Annals of the American Thoracic Society*, 14(Supplement_1), S3–S11. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201612-997FR>
- Millet, G. Y. (2011). Can neuromuscular fatigue explain running strategies and performance in ultra-marathons?: The flush model. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 41(6), 489–506. <https://doi.org/10.2165/11588760-000000000-00000>

- Minniti, C. P., Machado, R. F., Coles, W. A., Sachdev, V., Gladwin, M. T., & Kato, G. J. (2009). Endothelin receptor antagonists for pulmonary hypertension in adult patients with sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, *147*(5), 737–743. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07906.x>
- Miyazaki, H., Oh-ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S., Haga, S., Ji, L. L., & Ohno, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *84*(1–2), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s004210000342>
- Möckesch, B., Charlot, K., Jumet, S., Romana, M., Divialle-Doumdo, L., Hardy-Dessources, M.-D., Petras, M., Tressieres, B., Tarer, V., Hue, O., Etienne-Julan, M., Connes, P., & Antoine-Jonville, S. (2017). Micro- and macrovascular function in children with sickle cell anaemia and sickle cell haemoglobin C disease. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, *64*, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.02.001>
- Möckesch, B., Connes, P., Charlot, K., Skinner, S., Hardy-Dessources, M.-D., Romana, M., Jumet, S., Petras, M., Divialle-Doumdo, L., Martin, C., Tressières, B., Tarer, V., Hue, O., Etienne-Julan, M., Antoine, S., & Pialoux, V. (2017). Association between oxidative stress and vascular reactivity in children with sickle cell anaemia and sickle haemoglobin C disease. *British Journal of Haematology*, *178*(3), 468–475. <https://doi.org/10.1111/bjh.14693>
- Mohan, J. S., Lip, G. Y. H., Blann, A. D., Bareford, D., & Marshall, J. M. (2011). Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatation of the cutaneous circulation in sickle cell disease. *European Journal of Clinical Investigation*, *41*(5), 546–551. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2010.02444.x>
- Moheeb, H., Wali, Y. A., & El-Sayed, M. S. (2007). Physical fitness indices and anthropometrics profiles in schoolchildren with sickle cell trait/disease. *American Journal of Hematology*, *82*(2), 91–97. <https://doi.org/10.1002/ajh.20755>
- Morel, B., Cléménçon, M., Rota, S., Millet, G. Y., Bishop, D. J., Brosseau, O., Rouffet, D. M., & Hautier, C. A. (2015). Contraction velocity influence the magnitude and etiology of neuromuscular fatigue during repeated maximal contractions. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *25*(5), e432-441. <https://doi.org/10.1111/sms.12358>

- Morel, Baptiste, Lapole, T., Liotard, C., & Hautier, C. (2019). Critical Peripheral Fatigue Thresholds Among Different Force-Velocity Conditions: An Individual-Based Model Approach. *Frontiers in Physiology, 10*, 875. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00875>
- Morel, Baptiste, Rouffet, D. M., Saboul, D., Rota, S., Cléménçon, M., & Hautier, C. A. (2015). Peak torque and rate of torque development influence on repeated maximal exercise performance: Contractile and neural contributions. *PLoS One, 10*(4), e0119719. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119719>
- Moriguchi, J., Itoh, H., Harada, S., Takeda, K., Hatta, T., Nakata, T., & Sasaki, S. (2005). Low frequency regular exercise improves flow-mediated dilatation of subjects with mild hypertension. *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension, 28*(4), 315–321. <https://doi.org/10.1291/hypres.28.315>
- Morris, C. R. (2008). Mechanisms of Vasculopathy in Sickle Cell Disease and Thalassemia. *Hematology, 2008*(1), 177–185. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2008.1.177>
- Morris, C. R. (2011). Vascular risk assessment in patients with sickle cell disease. *Haematologica, 96*(1), 1–5. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.035097>
- Murias, J. M., Kowalchuk, J. M., Ritchie, D., Hepple, R. T., Doherty, T. J., & Paterson, D. H. (2011). Adaptations in Capillarization and Citrate Synthase Activity in Response to Endurance Training in Older and Young Men. *The Journals of Gerontology: Series A, 66A*(9), 957–964. <https://doi.org/10.1093/gerona/glr096>
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal, 417*(Pt 1), 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
- Nader, E., Grau, M., Fort, R., Collins, B., Cannas, G., Gauthier, A., Walpurgis, K., Martin, C., Bloch, W., Poutrel, S., Hot, A., Renoux, C., Thevis, M., Joly, P., Romana, M., Guillot, N., & Connes, P. (2018). Hydroxyurea therapy modulates sickle cell anemia red blood cell physiology: Impact on RBC deformability, oxidative stress, nitrite levels and nitric oxide synthase signalling pathway. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry, 81*, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.10.003>
- Nader, E., Romana, M., & Connes, P. (2020). The Red Blood Cell—Inflammation Vicious Circle in Sickle Cell Disease. *Frontiers in Immunology, 11*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00454>
- Nader, E., Skinner, S., Romana, M., Fort, R., Lemonne, N., Guillot, N., Gauthier, A., Antoine-Jonville, S., Renoux, C., Hardy-Dessources, M.-D., Stauffer, E., Joly, P., Bertrand, Y., & Connes, P.

- (2019). Blood Rheology: Key Parameters, Impact on Blood Flow, Role in Sickle Cell Disease and Effects of Exercise. *Frontiers in Physiology*, *10*, 1329. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01329>
- Nagel, R. L., Fabry, M. E., & Steinberg, M. H. (2003). The paradox of hemoglobin SC disease. *Blood Reviews*, *17*(3), 167–178. [https://doi.org/10.1016/s0268-960x\(03\)00003-1](https://doi.org/10.1016/s0268-960x(03)00003-1)
- Nanduri, J., Vaddi, D. R., Khan, S. A., Wang, N., Makerenko, V., & Prabhakar, N. R. (2013). Xanthine Oxidase Mediates Hypoxia-Inducible Factor-2 α Degradation by Intermittent Hypoxia. *PLOS ONE*, *8*(10), e75838. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075838>
- Natarajan, R., Fisher, B. J., & Fowler, A. A. (2007). Hypoxia inducible factor-1 modulates hemin-induced IL-8 secretion in microvascular endothelium. *Microvascular Research*, *73*(3), 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2007.01.002>
- Nath, K. A., & Hebbel, R. P. (2015). Sickle cell disease: Renal manifestations and mechanisms. *Nature Reviews Nephrology*, *11*(3), 161–171. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.8>
- Natta, C. L., Chen, L. C., & Chow, C. K. (1990). Selenium and glutathione peroxidase levels in sickle cell anemia. *Acta Haematologica*, *83*(3), 130–132. <https://doi.org/10.1159/000205188>
- Nebor, D., Bowers, A., Hardy-Dessources, M.-D., Knight-Madden, J., Romana, M., Reid, H., Barthélémy, J.-C., Cumming, V., Hue, O., Elion, J., Reid, M., & Connes, P. (2011). Frequency of pain crises in sickle cell anemia and its relationship with the sympatho-vagal balance, blood viscosity and inflammation. *Haematologica*, *96*(11), 1589–1594. <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.047365>
- Neel, J. V. (1949). The Inheritance of Sickle Cell Anemia. *Science*, *110*(2846), 64–66. <https://doi.org/10.1126/science.110.2846.64>
- Nevitt, S. J., Jones, A. P., & Howard, J. (2017). Hydroxyurea (hydroxycarbamide) for sickle cell disease. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *4*, CD002202. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002202.pub2>
- Neyroud, D., Kayser, B., & Place, N. (2016). Are There Critical Fatigue Thresholds? Aggregated vs. Individual Data. *Frontiers in Physiology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00376>
- Niihara, Y., Matsui, N. M., Shen, Y. M., Akiyama, D. A., Johnson, C. S., Sunga, M. A., Magpayo, J., Embury, S. H., Kalra, V. K., Cho, S. H., & Tanaka, K. R. (2005). L-glutamine therapy reduces endothelial adhesion of sickle red blood cells to human umbilical vein endothelial cells. *BMC Blood Disorders*, *5*, 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2326-5-4>

- Niihara, Y., Miller, S. T., Kanter, J., Lanzkron, S., Smith, W. R., Hsu, L. L., Gordeuk, V. R., Viswanathan, K., Sarnaik, S., Osunkwo, I., Guillaume, E., Sadanandan, S., Sieger, L., Lasky, J. L., Panosyan, E. H., Blake, O. A., New, T. N., Bellevue, R., Tran, L. T., ... Investigators of the Phase 3 Trial of L-Glutamine in Sickle Cell Disease. (2018). A Phase 3 Trial of L-Glutamine in Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*, 379(3), 226–235. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1715971>
- Nilsson, M. I., Bourgeois, J. M., Nederveen, J. P., Leite, M. R., Hettinga, B. P., Bujak, A. L., May, L., Lin, E., Crozier, M., Rusiecki, D. R., Moffatt, C., Azzopardi, P., Young, J., Yang, Y., Nguyen, J., Adler, E., Lan, L., & Tarnopolsky, M. A. (2019). Lifelong aerobic exercise protects against inflammaging and cancer. *PLoS ONE*, 14(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210863>
- Niss, O., Quinn, C. T., Lane, A., Daily, J., Khoury, P. R., Bakeer, N., Kimball, T. R., Towbin, J. A., Malik, P., & Taylor, M. D. (2016). The Unique Cardiomyopathy with Restrictive Physiology of Sickle Cell Disease. *JACC. Cardiovascular Imaging*, 9(3), 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2015.05.013>
- Noakes, T. D. (2011). Time to move beyond a brainless exercise physiology: The evidence for complex regulation of human exercise performance. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 36(1), 23–35. <https://doi.org/10.1139/H10-082>
- Noakes, T. D. (2012). Fatigue is a Brain-Derived Emotion that Regulates the Exercise Behavior to Ensure the Protection of Whole Body Homeostasis. *Frontiers in Physiology*, 3, 82. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00082>
- Novelli, E. M., & Gladwin, M. T. (2016). Crises in Sickle Cell Disease. *Chest*, 149(4), 1082–1093. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2015.12.016>
- Nur, E., Biemond, B. J., Otten, H.-M., Brandjes, D. P., Schnog, J.-J. B., & the CURAMA Study Group. (2011). Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *American Journal of Hematology*, 86(6), 484–489. <https://doi.org/10.1002/ajh.22012>
- Nyberg, A., Törnberg, A., & Wadell, K. (2016). Correlation between Limb Muscle Endurance, Strength, and Functional Capacity in People with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Physiotherapy Canada. Physiotherapie Canada*, 68(1), 46–53. <https://doi.org/10.3138/ptc.2014-93>
- Nystoriak, M. A., & Bhatnagar, A. (2018). Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00135>

- Ohara, D. G., Ruas, G., Walsh, I. A. P., Castro, S. S., & Jamami, M. (2014). Lung function and six-minute walk test performance in individuals with sickle cell disease. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, *18*(1), 79–87. <https://doi.org/10.1590/S1413-35552012005000139>
- Ohene-Frempong, K., Weiner, S. J., Sleeper, L. A., Miller, S. T., Embury, S., Moohr, J. W., Wethers, D. L., Pegelow, C. H., & Gill, F. M. (1998). Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: Rates and risk factors. *Blood*, *91*(1), 288–294.
- Ohno, H., Yahata, T., Sato, Y., Yamamura, K., & Taniguchi, N. (1988). Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, *57*(2), 173–176. <https://doi.org/10.1007/BF00640658>
- Ohtsuki, I., & Morimoto, S. (2008). Troponin: Regulatory function and disorders. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *369*(1), 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.11.187>
- Ojima, K. (2019). Myosin: Formation and maintenance of thick filaments. *Animal Science Journal = Nihon Chikusan Gakkaiho*, *90*(7), 801–807. <https://doi.org/10.1111/asj.13226>
- Okuyucu, E. E., Turhanoglu, A., Duman, T., Kaya, H., Melek, I. M., & Yilmazer, S. (2009). Peripheral nervous system involvement in patients with sickle cell disease. *European Journal of Neurology*, *16*(7), 814–818. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2009.02592.x>
- Olivieri, O., Vitoux, D., Galacteros, F., Bachir, D., Blouquit, Y., Beuzard, Y., & Brugnara, C. (1992). Hemoglobin variants and activity of the (K+Cl⁻) cotransport system in human erythrocytes. *Blood*, *79*(3), 793–797.
- Olver, T. D., Ferguson, B. S., & Laughlin, M. H. (2015). Molecular Mechanisms for Exercise Training-Induced Changes in Vascular Structure and Function: Skeletal Muscle, Cardiac Muscle, and the Brain. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, *135*, 227–257. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.07.017>
- Ørtenblad, N., Westerblad, H., & Nielsen, J. (2013). Muscle glycogen stores and fatigue. *The Journal of Physiology*, *591*(Pt 18), 4405–4413. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.251629>
- Oyono-Enguélé, S., Le Gallais, D., Lonsdorfer, A., Dah, C., Freund, H., Bogui, P., & Lonsdorfer, J. (2000). Cardiorespiratory and metabolic responses to exercise in HbSC sickle cell patients. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *32*(4), 725–731. <https://doi.org/10.1097/00005768-200004000-00002>

- Pageaux, B., Lepers, R., Dietz, K. C., & Marcora, S. M. (2014). Response inhibition impairs subsequent self-paced endurance performance. *European Journal of Applied Physiology*, *114*(5), 1095–1105. <https://doi.org/10.1007/s00421-014-2838-5>
- Pageaux, B., Marcora, S. M., & Lepers, R. (2013). Prolonged mental exertion does not alter neuromuscular function of the knee extensors. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *45*(12), 2254–2264. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31829b504a>
- Pageaux, B., Marcora, S. M., Rozand, V., & Lepers, R. (2015). Mental fatigue induced by prolonged self-regulation does not exacerbate central fatigue during subsequent whole-body endurance exercise. *Frontiers in Human Neuroscience*, *9*, 67. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00067>
- Paradis, S., Charles, A.-L., Meyer, A., Lejay, A., Scholey, J. W., Chakfé, N., Zoll, J., & Geny, B. (2016). Chronology of mitochondrial and cellular events during skeletal muscle ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *310*(11), C968-982. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00356.2015>
- Parent, F., Bachir, D., Inamo, J., Lionnet, F., Driss, F., Loko, G., Habibi, A., Bennani, S., Savale, L., Adnot, S., Maitre, B., Yaïci, A., Hajji, L., O’Callaghan, D. S., Clerson, P., Girot, R., Galacteros, F., & Simonneau, G. (2011). A Hemodynamic Study of Pulmonary Hypertension in Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*, *365*(1), 44–53. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1005565>
- Parra, M. E., Sterczala, A. J., Miller, J. D., Trevino, M. A., Dimmick, H. L., & Herda, T. J. (2020). Sex-related differences in motor unit firing rates and action potential amplitudes of the first dorsal interosseous during high-, but not low-intensity contractions. *Experimental Brain Research*, *238*(5), 1133–1144. <https://doi.org/10.1007/s00221-020-05759-1>
- Pate, E., Bhimani, M., Franks-Skiba, K., & Cooke, R. (1995). Reduced effect of pH on skinned rabbit psoas muscle mechanics at high temperatures: Implications for fatigue. *The Journal of Physiology*, *486*(Pt 3), 689–694.
- Pauling, L., Itano, H. A., Singer, S. J., & Wells, I. C. (1949). Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease. *Science*, *110*(2865), 543–548. <https://doi.org/10.1126/science.110.2865.543>
- Periasamy, M., Maurya, S. K., Sahoo, S. K., Singh, S., Sahoo, S. K., Reis, F. C. G., & Bal, N. C. (2017). Role of SERCA Pump in Muscle Thermogenesis and Metabolism. *Comprehensive Physiology*, *7*(3), 879–890. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160030>

- Pernow, B., & Saltin, B. (1971). Availability of substrates and capacity for prolonged heavy exercise in man. *Journal of Applied Physiology*, 31(3), 416–422. <https://doi.org/10.1152/jappl.1971.31.3.416>
- Petersen, A. M. W., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 98(4), 1154–1162. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00164.2004>
- Petersen, N. T., Taylor, J. L., Butler, J. E., & Gandevia, S. C. (2003). Depression of Activity in the Corticospinal Pathway during Human Motor Behavior after Strong Voluntary Contractions. *The Journal of Neuroscience*, 23(22), 7974–7980. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-22-07974.2003>
- Petrofsky, J. S., & Lind, A. R. (1980). The influence of temperature on the amplitude and frequency components of the EMG during brief and sustained isometric contractions. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 44(2), 189–200. <https://doi.org/10.1007/BF00421098>
- Pialoux, V., Mounier, R., Ponsot, E., Rock, E., Mazur, A., Dufour, S., Richard, R., Richalet, J.-P., Coudert, J., & Fellmann, N. (2006). Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60(12), 1345–1354. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602462>
- Pianosi, P., Charge, T. D., Esseltine, D. W., & Coates, A. L. (1993). Pulse oximetry in sickle cell disease. *Archives of Disease in Childhood*, 68(6), 735–738. <https://doi.org/10.1136/adc.68.6.735>
- Pianosi, P., D'Souza, S. J., Charge, T. D., Béland, M. J., Esseltine, D. W., & Coates, A. L. (1991). Cardiac output and oxygen delivery during exercise in sickle cell anemia. *The American Review of Respiratory Disease*, 143(2), 231–235. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/143.2.231>
- Piel, F. B., Howes, R. E., Patil, A. P., Nyangiri, O. A., Gething, P. W., Bhatt, S., Williams, T. N., Weatherall, D. J., & Hay, S. I. (2013). The distribution of haemoglobin C and its prevalence in newborns in Africa. *Scientific Reports*, 3. <https://doi.org/10.1038/srep01671>
- Piel, F. B., Patil, A. P., Howes, R. E., Nyangiri, O. A., Gething, P. W., Dewi, M., Temperley, W. H., Williams, T. N., Weatherall, D. J., & Hay, S. I. (2013). Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: A contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet*, 381(9861), 142–151. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61229-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61229-X)

- Piel, F. B., Patil, A. P., Howes, R. E., Nyangiri, O. A., Gething, P. W., Williams, T. N., Weatherall, D. J., & Hay, S. I. (2010). Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nature Communications*, *1*, 104. <https://doi.org/10.1038/ncomms1104>
- Pinto, V. M., Balocco, M., Quintino, S., & Forni, G. L. (2019). Sickle cell disease: A review for the internist. *Internal and Emergency Medicine*, *14*(7), 1051–1064. <https://doi.org/10.1007/s11739-019-02160-x>
- Place, N., Ivarsson, N., Venckunas, T., Neyroud, D., Brazaitis, M., Cheng, A. J., Ochala, J., Kamandulis, S., Girard, S., Volungevičius, G., Paužas, H., Mekideche, A., Kayser, B., Martinez-Redondo, V., Ruas, J. L., Bruton, J., Truffert, A., Lanner, J. T., Skurvydas, A., & Westerblad, H. (2015). Ryanodine receptor fragmentation and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak after one session of high-intensity interval exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(50), 15492–15497. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507176112>
- Plant, D. R., Gregorevic, P., Warmington, S. A., Williams, D. A., & Lynch, G. S. (2003). Endurance training adaptations modulate the redox–force relationship of rat isolated slow-twitch skeletal muscles. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *30*(1–2), 77–81. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03794.x>
- Pollak, K. A., Swenson, J. D., Vanhaisma, T. A., Hughen, R. W., Jo, D., Light, K. C., Schweinhardt, P., Amann, M., & Light, A. R. (2014). Exogenously applied muscle metabolites synergistically evoke sensations of muscle fatigue and pain in human subjects. *Experimental Physiology*, *99*(2), 368–380. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.075812>
- Poss, W. B., Huecksteadt, T. P., Panus, P. C., Freeman, B. A., & Hoidal, J. R. (1996). Regulation of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activity by hypoxia. *The American Journal of Physiology*, *270*(6 Pt 1), L941-946.
- Powell, A. W., Alsaied, T., Niss, O., Fleck, R. J., Malik, P., Quinn, C. T., Mays, W. A., Taylor, M. D., & Chin, C. (2019). Abnormal submaximal cardiopulmonary exercise parameters predict impaired peak exercise performance in sickle cell anemia patients. *Pediatric Blood & Cancer*, *66*(6), e27703. <https://doi.org/10.1002/pbc.27703>
- Powers, S. K., Criswell, D., Lawler, J., Ji, L. L., Martin, D., Herb, R. A., & Dudley, G. (1994). Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *The American Journal of Physiology*, *266*(2 Pt 2), R375-380.

- POWERS, S. K., & JACKSON, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Powers, Scott K., Lynch, G. S., Murphy, K. T., Reid, M. B., & Zijdwind, I. (2016). Disease-Induced Skeletal Muscle Atrophy and Fatigue. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 48(11), 2307–2319. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000975>
- Powers, Scott K., Nelson, W. B., & Hudson, M. B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 942–950. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009>
- Prilutsky, B. I., Herzog, W., & Allinger, T. L. (1996). Mechanical power and work of cat soleus, gastrocnemius and plantaris muscles during locomotion: Possible functional significance of muscle design and force patterns. *The Journal of Experimental Biology*, 199(Pt 4), 801–814.
- Proske, U. (2019). Exercise, fatigue and proprioception: A retrospective. *Experimental Brain Research*, 237(10), 2447–2459. <https://doi.org/10.1007/s00221-019-05634-8>
- Proske, U., & Allen, T. (2019). The neural basis of the senses of effort, force and heaviness. *Experimental Brain Research*, 237(3), 589–599. <https://doi.org/10.1007/s00221-018-5460-7>
- Pule, G. D., Mowla, S., Novitzky, N., Wiysonge, C. S., & Wonkam, A. (2015). A Systematic Review of Known Mechanisms of Hydroxyurea-induced Foetal Haemoglobin for Treatment of Sickle Cell Disease. *Expert Review of Hematology*, 8(5), 669–679. <https://doi.org/10.1586/17474086.2015.1078235>
- Radi, R., Beckman, J. S., Bush, K. M., & Freeman, B. A. (1991). Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 288(2), 481–487. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90224-7](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90224-7)
- Ravelojaona, M., Féasson, L., Oyono-Enguélé, S., Vincent, L., Djoubairou, B., Ewa'Sama Essoue, C., & Messonnier, L. A. (2015). Evidence for a profound remodeling of skeletal muscle and its microvasculature in sickle cell anemia. *The American Journal of Pathology*, 185(5), 1448–1456. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.01.023>
- Rees, D. C., & Gibson, J. S. (2012). Biomarkers in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, 156(4), 433–445. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08961.x>
- Rees, D. C., Williams, T. N., & Gladwin, M. T. (2010). Sickle-cell disease. *Lancet (London, England)*, 376(9757), 2018–2031. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61029-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X)

- Reid, M. B., Khawli, F. A., & Moody, M. R. (1993). Reactive oxygen in skeletal muscle. III. Contractility of unfatigued muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 75(3), 1081–1087.
- Ren, H., Ghebremeskel, K., Okpala, I., Lee, A., Ibegbulam, O., & Crawford, M. (2008). Patients with sickle cell disease have reduced blood antioxidant protection. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Fur Vitamin- Und Ernährungsforschung. Journal International De Vitaminologie Et De Nutrition*, 78(3), 139–147. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.78.3.139>
- Renoux, C., Joly, P., Faes, C., Mury, P., Eglenen, B., Turkay, M., Yavas, G., Yalcin, O., Bertrand, Y., Garnier, N., Cuzzubbo, D., Gauthier, A., Romana, M., Möckesch, B., Cannas, G., Antoine-Jonville, S., Pialoux, V., & Connes, P. (2018). Association between Oxidative Stress, Genetic Factors, and Clinical Severity in Children with Sickle Cell Anemia. *The Journal of Pediatrics*, 195, 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.12.021>
- Renoux, C., Romana, M., Joly, P., Ferdinand, S., Faes, C., Lemonne, N., Skinner, S., Garnier, N., Etienne-Julan, M., Bertrand, Y., Petras, M., Cannas, G., Divialle-Doumido, L., Nader, E., Cuzzubbo, D., Lamarre, Y., Gauthier, A., Waltz, X., Kebaili, K., ... Connes, P. (2016). Effect of Age on Blood Rheology in Sickle Cell Anaemia and Sickle Cell Haemoglobin C Disease: A Cross-Sectional Study. *PLoS ONE*, 11(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158182>
- Resar, L. M., & Oski, F. A. (1991). Cold water exposure and vaso-occlusive crises in sickle cell anemia. *The Journal of Pediatrics*, 118(3), 407–409. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(05\)82156-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(05)82156-0)
- Ribeil, J.-A., Hacein-Bey-Abina, S., Payen, E., Magnani, A., Semeraro, M., Magrin, E., Caccavelli, L., Neven, B., Bourget, P., El Nemer, W., Bartolucci, P., Weber, L., Puy, H., Meritet, J.-F., Grevent, D., Beuzard, Y., Chrétien, S., Lefebvre, T., Ross, R. W., ... Cavazzana, M. (2017). Gene Therapy in a Patient with Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*, 376(9), 848–855. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609677>
- Ribeiro, M. V. M. R., Jucá, J. V. de O., Alves, A. L. C. dos S., Ferreira, C. V. O., Barbosa, F. T., Ribeiro, Ê. A. N., Ribeiro, M. V. M. R., Jucá, J. V. de O., Alves, A. L. C. dos S., Ferreira, C. V. O., Barbosa, F. T., & Ribeiro, Ê. A. N. (2017). Sickle cell retinopathy: A literature review. *Revista Da Associação Médica Brasileira*, 63(12), 1100–1103. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.63.12.1100>

- Rinaldo, N., Bacchi, E., Coratella, G., Vitali, F., Milanese, C., Rossi, A., Schena, F., & Lanza, M. (2017). Effects of Combined Aerobic-Strength Training vs Fitness Education Program in COPD Patients. *International Journal of Sports Medicine*, 38(13), 1001–1008. <https://doi.org/10.1055/s-0043-112339>
- Ríos, E., Karhanek, M., Ma, J., & González, A. (1993). An allosteric model of the molecular interactions of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *The Journal of General Physiology*, 102(3), 449–481. <https://doi.org/10.1085/jgp.102.3.449>
- Robertson, J. D., Maughan, R. J., Duthie, G. G., & Morrice, P. C. (1991). Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 80(6), 611–618. <https://doi.org/10.1042/cs0800611>
- Rom, O., & Reznick, A. Z. (2016). The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 218–230. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.031>
- Ron, T. (2012). *Molecular Medicine*. Academic Press.
- Rosse, W. F., Gallagher, D., Kinney, T. R., Castro, O., Dosik, H., Moohr, J., Wang, W., & Levy, P. S. (1990). Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood*, 76(7), 1431–1437.
- Rothman, S. M., Fulling, K. H., & Nelson, J. S. (1986). Sickle cell anemia and central nervous system infarction: A neuropathological study. *Annals of Neurology*, 20(6), 684–690. <https://doi.org/10.1002/ana.410200606>
- Rusanova, I., Escames, G., Cossio, G., de Borace, R. G., Moreno, B., Chahboune, M., López, L. C., Díez, T., & Acuña-Castroviejo, D. (2010). Oxidative stress status, clinical outcome, and β -globin gene cluster haplotypes in pediatric patients with sickle cell disease. *European Journal of Haematology*, 85(6), 529–537. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2010.01528.x>
- Sakellariou, G. K., Jackson, M. J., & Vasilaki, A. (2014). Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases. *Free Radical Research*, 48(1), 12–29. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.830718>
- Sandiford, S. D., Green, H. J., Duhamel, T. A., Schertzer, J. D., Perco, J. D., & Ouyang, J. (2005). Muscle Na-K-pump and fatigue responses to progressive exercise in normoxia and hypoxia. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(2), R441–R449. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00652.2004>

- Schacter, L., Warth, J. A., Gordon, E. M., Prasad, A., & Klein, B. L. (1988). Altered amount and activity of superoxide dismutase in sickle cell anemia. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2(3), 237–243. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2.3.3350236>
- Schaer, D. J., Vinchi, F., Ingoglia, G., Tolosano, E., & Buehler, P. W. (2014). Haptoglobin, hemopexin, and related defense pathways-basic science, clinical perspectives, and drug development. *Frontiers in Physiology*, 5, 415. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00415>
- Schoenfeld, B. J., Ogborn, D., & Krieger, J. W. (2016). Effects of Resistance Training Frequency on Measures of Muscle Hypertrophy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 46(11), 1689–1697. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0543-8>
- Schoenfeld, B. J., Peterson, M. D., Ogborn, D., Contreras, B., & Sonmez, G. T. (2015). Effects of Low- vs. High-Load Resistance Training on Muscle Strength and Hypertrophy in Well-Trained Men. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 29(10), 2954–2963. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000958>
- Schroeder, E. C., Franke, W. D., Sharp, R. L., & Lee, D. (2019). Comparative effectiveness of aerobic, resistance, and combined training on cardiovascular disease risk factors: A randomized controlled trial. *PLoS ONE*, 14(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210292>
- Serjeant, G. R., Ceulaer, C. D., Lethbridge, R., Morris, J., Singhal, A., & Thomas, P. W. (1994). The painful crisis of homozygous sickle cell disease: Clinical features. *British Journal of Haematology*, 87(3), 586–591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1994.tb08317.x>
- Serjeant, Graham R. (2001). The emerging understanding of sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, 112(1), 3–18. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2001.02557.x>
- Serjeant, Graham R. (2013). The Natural History of Sickle Cell Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(10). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011783>
- Serysheva, I. I., Chiu, W., & Ludtke, S. J. (2007). Single-particle electron cryomicroscopy of the ion channels in the excitation-contraction coupling junction. *Methods in Cell Biology*, 79, 407–435. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(06\)79016-1](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(06)79016-1)
- Sharma, D., & Brandow, A. M. (2020). Neuropathic pain in individuals with sickle cell disease. *Neuroscience Letters*, 714, 134445. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134445>
- Shimauti, E. L. T., Belini Junior, E., Baracioli, L. M. da S. V., Souza, E. M. de, Granzotto, D., Almeida, E. A. de, Silva, D. G. H., Ricci Junior, O., & Bonini-Domingos, C. R. (2014). Influence of β S

- allele in the lipid peroxidation and antioxidant capacity parameters. *International Journal of Laboratory Hematology*, 36(2), 205–212. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12154>
- Shimauti, Eliana Litsuko Tomimatsu, Silva, D. G. H., de Almeida, E. A., Zamaro, P. J. A., Belini Junior, E., & Bonini-Domingos, C. R. (2010). Serum melatonin level and oxidative stress in sickle cell anemia. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 45(4), 297–301. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2010.08.013>
- Silva, D. G. H., Belini Junior, E., Torres, L. de S., Ricci Júnior, O., Lobo, C. de C., Bonini-Domingos, C. R., & de Almeida, E. A. (2011). Relationship between oxidative stress, glutathione S-transferase polymorphisms and hydroxyurea treatment in sickle cell anemia. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 47(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2011.03.004>
- Siu, P. M., Donley, D. A., Bryner, R. W., & Alway, S. E. (2003). Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles. *Journal of Applied Physiology*, 94(2), 555–560. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00821.2002>
- Sjøgaard, G., Savard, G., & Juel, C. (1988). Muscle blood flow during isometric activity and its relation to muscle fatigue. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 57(3), 327–335. <https://doi.org/10.1007/BF00635992>
- Smaldone, A., Findley, S., Manwani, D., Jia, H., & Green, N. S. (2018). HABIT, a Randomized Feasibility Trial to Increase Hydroxyurea Adherence, Suggests Improved Health-Related Quality of Life in Youths with Sickle Cell Disease. *The Journal of Pediatrics*, 197, 177-185.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.01.054>
- Smale, K. B., Shourijeh, M. S., & Benoit, D. L. (2016). Use of muscle synergies and wavelet transforms to identify fatigue during squatting. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 28, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2016.04.008>
- Smith, A., & McCulloh, R. J. (2015). Hemopexin and haptoglobin: Allies against heme toxicity from hemoglobin not contenders. *Frontiers in Physiology*, 6, 187. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00187>
- Smith, W. R., Penberthy, L. T., Bovbjerg, V. E., McClish, D. K., Roberts, J. D., Dahman, B., Aisiku, I. P., Levenson, J. L., & Roseff, S. D. (2008). Daily Assessment of Pain in Adults with Sickle Cell Disease. *Annals of Internal Medicine*, 148(2), 94–101. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-148-2-200801150-00004>

- Spoelstra-de Man, A. M. E., Elbers, P. W. G., & Oudemans-Van Straaten, H. M. (2018). Vitamin C: Should we supplement? *Current Opinion in Critical Care*, 24(4), 248–255. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000510>
- Steele, D. S., & Duke, A. M. (2003). Metabolic factors contributing to altered Ca²⁺ regulation in skeletal muscle fatigue. *Acta Physiologica Scandinavica*, 179(1), 39–48. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01169.x>
- Steele, T. W. E., & Samsó, M. (2019). The FKBP12 subunit modifies the long-range allostereism of the ryanodine receptor. *Journal of Structural Biology*, 205(2), 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2018.12.007>
- Steinberg, M. H., Barton, F., Castro, O., Pegelow, C. H., Ballas, S. K., Kutlar, A., Orringer, E., Bellevue, R., Olivieri, N., Eckman, J., Varma, M., Ramirez, G., Adler, B., Smith, W., Carlos, T., Ataga, K., DeCastro, L., Bigelow, C., Sauntharajah, Y., ... Terrin, M. (2003). Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: Risks and benefits up to 9 years of treatment. *JAMA*, 289(13), 1645–1651. <https://doi.org/10.1001/jama.289.13.1645>
- Steinberg, M., McCarthy, W., Castro, O., Ballas, S., Armstrong, F., Smith, W., Ataga, K., Swerdlow, P., Kutlar, A., DeCastro, L., & Waclawiw, M. (2010). The Risks and Benefits of Long-term Use of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia: A 17.5 Year Follow-Up. *American Journal of Hematology*, 85(6), 403–408. <https://doi.org/10.1002/ajh.21699>
- Sugawara, J., Komine, H., Hayashi, K., Yoshizawa, M., Otsuki, T., Shimojo, N., Miyauchi, T., Yokoi, T., Maeda, S., & Tanaka, H. (2007). Systemic alpha-adrenergic and nitric oxide inhibition on basal limb blood flow: Effects of endurance training in middle-aged and older adults. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 293(3), H1466-1472. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00273.2007>
- Summarell, C. C. G., & Sheehan, V. A. (2016). Original Research: Use of hydroxyurea and phlebotomy in pediatric patients with hemoglobin SC disease. *Experimental Biology and Medicine*, 241(7), 737–744. <https://doi.org/10.1177/1535370216639737>
- Sun, D., Huang, A., Koller, A., & Kaley, G. (1994). Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 76(5), 2241–2247. <https://doi.org/10.1152/jappl.1994.76.5.2241>
- Sundberg, C. W., Hunter, S. K., & Bundle, M. W. (2017). Rates of performance loss and neuromuscular activity in men and women during cycling: Evidence for a common metabolic basis of muscle

- fatigue. *Journal of Applied Physiology*, *122*(1), 130–141. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00468.2016>
- Szocs, K. (2004). Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *General Physiology and Biophysics*, *23*(3), 265–295.
- Taddei, S., Galetta, F., Viridis, A., Ghiadoni, L., Salvetti, G., Franzoni, F., Giusti, C., & Salvetti, A. (2000). Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. *Circulation*, *101*(25), 2896–2901. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.25.2896>
- Takagi, Y., Shuman, H., & Goldman, Y. E. (2004). Coupling between phosphate release and force generation in muscle actomyosin. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *359*(1452), 1913–1920. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1561>
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., & Liew, W.-P.-P. (2018). Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2018*. <https://doi.org/10.1155/2018/9719584>
- Taylor, J. L., Amann, M., Duchateau, J., Meeusen, R., & Rice, C. L. (2016). Neural Contributions to Muscle Fatigue: From the Brain to the Muscle and Back Again. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *48*(11), 2294–2306. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000923>
- Taylor, J. L., & Gandevia, S. C. (2008). A comparison of central aspects of fatigue in submaximal and maximal voluntary contractions. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *104*(2), 542–550. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01053.2007>
- Taylor, S. M., Parobek, C. M., & Fairhurst, R. M. (2012). Impact of haemoglobinopathies on the clinical epidemiology of malaria: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, *12*(6), 457–468. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70055-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70055-5)
- Telen, M. J., Wun, T., McCavit, T. L., De Castro, L. M., Krishnamurti, L., Lanzkron, S., Hsu, L. L., Smith, W. R., Rhee, S., Magnani, J. L., & Thackray, H. (2015). Randomized phase 2 study of GMI-1070 in SCD: Reduction in time to resolution of vaso-occlusive events and decreased opioid use. *Blood*, *125*(17), 2656–2664. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-583351>
- Tessier, F., Margaritis, I., Richard, M. J., Moynot, C., & Marconnet, P. (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *27*(3), 390–396.
- Tewari, S., Brousse, V., Piel, F. B., Menzel, S., & Rees, D. C. (2015). Environmental determinants of severity in sickle cell disease. *Haematologica*, *100*(9), 1108–1116. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.120030>

- Tripette, J., Alexy, T., Hardy-Dessources, M.-D., Mougengel, D., Beltan, E., Chalabi, T., Chout, R., Etienne-Julan, M., Hue, O., Meiselman, H. J., & Connes, P. (2009). Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica*, *94*(8), 1060–1065. <https://doi.org/10.3324/haematol.2008.005371>
- Trudel, M., De Paepe, M. E., Chrétien, N., Saadane, N., Jacmain, J., Sorette, M., Hoang, T., & Beuzard, Y. (1994). Sickle cell disease of transgenic SAD mice. *Blood*, *84*(9), 3189–3197.
- Trudel, M., Saadane, N., Garel, M. C., Bardakdjian-Michau, J., Blouquit, Y., Guerquin-Kern, J. L., Rouyer-Fessard, P., Vidaud, D., Pachnis, A., & Roméo, P. H. (1991). Towards a transgenic mouse model of sickle cell disease: Hemoglobin SAD. *The EMBO Journal*, *10*(11), 3157–3165.
- Twomey, R., Aboodarda, S. J., Kruger, R., Culos-Reed, S. N., Temesi, J., & Millet, G. Y. (2017). Neuromuscular fatigue during exercise: Methodological considerations, etiology and potential role in chronic fatigue. *Neurophysiologie Clinique = Clinical Neurophysiology*, *47*(2), 95–110. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2017.03.002>
- Uhelski, M. L., & Simone, D. A. (2019). Sensitization of nociceptors and dorsal horn neurons contributes to pain in sickle cell disease. *Neuroscience Letters*, *705*, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.013>
- Uwaezuoke, S. N., Ayuk, A. C., Ndu, I. K., Eneh, C. I., Mbanefo, N. R., & Ezenwosu, O. U. (2018). Vaso-occlusive crisis in sickle cell disease: Current paradigm on pain management. *Journal of Pain Research*, *11*, 3141–3150. <https://doi.org/10.2147/JPR.S185582>
- van Beers, E. J., van der Plas, M. N., Nur, E., Bogaard, H.-J., van Steenwijk, R. P., Biemond, B. J., & Bresser, P. (2014). Exercise tolerance, lung function abnormalities, anemia, and cardiothoracic ratio in sickle cell patients. *American Journal of Hematology*, *89*(8), 819–824. <https://doi.org/10.1002/ajh.23752>
- Van Cutsem, J., Marcora, S., De Pauw, K., Bailey, S., Meeusen, R., & Roelands, B. (2017). The Effects of Mental Fatigue on Physical Performance: A Systematic Review. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, *47*(8), 1569–1588. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0672-0>
- Van Cutsem, M., Feiereisen, P., Duchateau, J., & Hainaut, K. (1997). Mechanical properties and behaviour of motor units in the tibialis anterior during voluntary contractions. *Canadian Journal of Applied Physiology = Revue Canadienne De Physiologie Appliquee*, *22*(6), 585–597. <https://doi.org/10.1139/h97-038>

- Vanderhave, K. L., Perkins, C. A., Scannell, B., & Brighton, B. K. (2018). Orthopaedic Manifestations of Sickle Cell Disease. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, *26*(3), 94–101. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-16-00255>
- Vázquez, P., Tirado-Cortés, A., Álvarez, R., Ronjat, M., Amaya, A., & Ortega, A. (2016). Reversible oxidation of vicinal-thiols motif in sarcoplasmic reticulum calcium regulatory proteins is involved in muscle fatigue mechanism. *Cell Calcium*, *60*(4), 245–255. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.06.001>
- Vekilov, P. G. (2007). Sickle-cell haemoglobin polymerization: Is it the primary pathogenic event of sickle-cell anaemia? *British Journal of Haematology*, *139*(2), 173–184. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06794.x>
- Veluswamy, S., Shah, P., Khaleel, M., Thuptimang, W., Chalacheva, P., Sunwoo, J., Denton, C. C., Kato, R. M., Detterich, J. A., Wood, J. C., Sposto, R., Khoo, M. C., Zeltzer, L., & Coates, T. D. (2020). Progressive Vasoconstriction with Sequential Thermal Stimulation Indicates Vascular Dysautonomia in Sickle Cell Disease. *Blood*. <https://doi.org/10.1182/blood.2020005045>
- Viana, J. L., Kosmadakis, G. C., Watson, E. L., Bevington, A., Feehally, J., Bishop, N. C., & Smith, A. C. (2014). Evidence for anti-inflammatory effects of exercise in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, *25*(9), 2121–2130. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013070702>
- Vichinsky, E., Hoppe, C., Howard, J., Ataga, K. I., Nduba, V., El-Beshlawy, A., Diuguid, D. L., Al-Kindi, S., Brown, C., Hassab, H., Telfer, P., Tsitsikas, D. A., Unal, S., Kanter, J., Abboud, M. R., Gordeuk, V. R., Lehrer-Graiwer, J., Sherman, C., Tonda, M., ... Ware, R. E. (2018). Results from Part A of the Hemoglobin Oxygen Affinity Modulation to Inhibit HbS Polymerization (HOPE) Trial (GBT440-031), a Placebo-Controlled Randomized Study Evaluating Voxelotor (GBT440) in Adults and Adolescents with Sickle Cell Disease. *Blood*, *132*(Supplement 1), 505–505. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-118508>
- Vichinsky, E. P. (2001). Current issues with blood transfusions in sickle cell disease. *Seminars in Hematology*, *38*(1 Suppl 1), 14–22. [https://doi.org/10.1016/s0037-1963\(01\)90056-3](https://doi.org/10.1016/s0037-1963(01)90056-3)
- Viitala, P., & Newhouse, I. J. (2004). Vitamin E supplementation, exercise and lipid peroxidation in human participants. *European Journal of Applied Physiology*, *93*(1–2), 108–115. <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1178-2>

- Viitasalo, J. H., & Komi, P. V. (1977). Signal characteristics of EMG during fatigue. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 37(2), 111–121. <https://doi.org/10.1007/BF00421697>
- Viña, J., Gomez-Cabrera, M. C., Borrás, C., Froio, T., Sanchis-Gomar, F., Martínez-Bello, V. E., & Pallardo, F. V. (2009). Mitochondrial biogenesis in exercise and in ageing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(14), 1369–1374. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.06.006>
- Voskou, S., Aslan, M., Fanis, P., Phylactides, M., & Kleanthous, M. (2015). Oxidative stress in β -thalassaemia and sickle cell disease. *Redox Biology*, 6, 226–239. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.018>
- Wagener, F. A., Eggert, A., Boerman, O. C., Oyen, W. J., Verhofstad, A., Abraham, N. G., Adema, G., van Kooyk, Y., de Witte, T., & Figdor, C. G. (2001). Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. *Blood*, 98(6), 1802–1811. <https://doi.org/10.1182/blood.v98.6.1802>
- Wagener, F. A., Feldman, E., de Witte, T., & Abraham, N. G. (1997). Heme induces the expression of adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, and E selectin in vascular endothelial cells. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 216(3), 456–463. <https://doi.org/10.3181/00379727-216-44197>
- Wahid, A., Manek, N., Nichols, M., Kelly, P., Foster, C., Webster, P., Kaur, A., Friedemann Smith, C., Wilkins, E., Rayner, M., Roberts, N., & Scarborough, P. (2016). Quantifying the Association Between Physical Activity and Cardiovascular Disease and Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Heart Association*, 5(9). <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002495>
- Wali, Y. A., & Moheeb, H. (2011). Effect of hydroxyurea on physical fitness indices in children with sickle cell anemia. *Pediatric Hematology and Oncology*, 28(1), 43–50. <https://doi.org/10.3109/08880018.2010.524278>
- Waltz, X., Hedreville, M., Sinnapah, S., Lamarre, Y., Soter, V., Lemonne, N., Etienne-Julan, M., Beltan, E., Chalabi, T., Chout, R., Hue, O., Mougénel, D., Hardy-Dessources, M.-D., & Connes, P. (2012). Delayed beneficial effect of acute exercise on red blood cell aggregate strength in patients with sickle cell anemia. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 52(1), 15–26. <https://doi.org/10.3233/CH-2012-1540>

- Waltz, X., Pichon, A., Lemonne, N., Mougénel, D., Lalanne-Mistrih, M.-L., Lamarre, Y., Tarer, V., Tressières, B., Etienne-Julan, M., Hardy-Dessources, M.-D., Hue, O., & Connes, P. (2012). Normal muscle oxygen consumption and fatigability in sickle cell patients despite reduced microvascular oxygenation and hemorheological abnormalities. *PloS One*, *7*(12), e52471. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052471>
- Waltz, X., Romana, M., Hardy-Dessources, M.-D., Lamarre, Y., Divialle-Doumido, L., Petras, M., Tarer, V., Hierso, R., Baltyde, K.-C., Tressières, B., Lalanne-Mistrih, M.-L., Maillard, F., Hue, O., Etienne-Julan, M., & Connes, P. (2013). Hematological and hemorheological Determinants of the Six-Minute Walk Test Performance in Children with Sickle Cell Anemia. *PLoS ONE*, *8*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077830>
- Waltz, X., Romana, M., Lalanne-Mistrih, M.-L., Machado, R. F., Lamarre, Y., Tarer, V., Hardy-Dessources, M.-D., Tressières, B., Divialle-Doumido, L., Petras, M., Maillard, F., Etienne-Julan, M., & Connes, P. (2013). Hematologic and hemorheological determinants of resting and exercise-induced hemoglobin oxygen desaturation in children with sickle cell disease. *Haematologica*, *98*(7), 1039–1044. <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.083576>
- Wang, W., Brugnara, C., Snyder, C., Wynn, L., Rogers, Z., Kalinyak, K., Brown, C., Qureshi, A., Bigelow, C., Neumayr, L., Smith-Whitley, K., Chui, D. H. K., Delahunty, M., Woolson, R., Steinberg, M., Telen, M., & Kesler, K. (2011). The effects of hydroxycarbamide and magnesium on haemoglobin SC disease: Results of the multi-centre CHAMPS trial. *British Journal of Haematology*, *152*(6), 771–776. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08523.x>
- Waning, D. L., Mohammad, K. S., Reiken, S., Xie, W., Andersson, D. C., John, S., Chiechi, A., Wright, L. E., Umanskaya, A., Niewolna, M., Trivedi, T., Charkharrin, S., Khatiwada, P., Wronska, A., Haynes, A., Benassi, M. S., Witzmann, F. A., Zhen, G., Wang, X., ... Guise, T. A. (2015). Excess TGF- β mediates muscle weakness associated with bone metastases in mice. *Nature Medicine*, *21*(11), 1262–1271. <https://doi.org/10.1038/nm.3961>
- Ware, R. E. (2010). How I use hydroxyurea to treat young patients with sickle cell anemia. *Blood*, *115*(26), 5300–5311. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-04-146852>
- Warshaw, D. M., Desrosiers, J. M., Work, S. S., & Trybus, K. M. (1991). Effects of MgATP, MgADP, and Pi on actin movement by smooth muscle myosin. *The Journal of Biological Chemistry*, *266*(36), 24339–24343.

- Weatherall, David. J. (2010). The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*, *115*(22), 4331–4336. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-01-251348>
- Wei, L., Varsányi, M., Dulhunty, A. F., & Beard, N. A. (2006). The conformation of calsequestrin determines its ability to regulate skeletal ryanodine receptors. *Biophysical Journal*, *91*(4), 1288–1301. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.082610>
- Westcott, W. L. (2012). Resistance training is medicine: Effects of strength training on health. *Current Sports Medicine Reports*, *11*(4), 209–216. <https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e31825dabb8>
- Westerblad, H., & Allen, D. G. (1992). Changes of intracellular pH due to repetitive stimulation of single fibres from mouse skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, *449*, 49–71. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019074>
- Westerblad, H., Bruton, J. D., & Lännergren, J. (1997). The effect of intracellular pH on contractile function of intact, single fibres of mouse muscle declines with increasing temperature. *The Journal of Physiology*, *500* (Pt 1), 193–204. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1997.sp022009>
- Westerblad, H., Duty, S., & Allen, D. G. (1993). Intracellular calcium concentration during low-frequency fatigue in isolated single fibers of mouse skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *75*(1), 382–388. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.75.1.382>
- Westerblad, Håkan. (2016). Acidosis Is Not a Significant Cause of Skeletal Muscle Fatigue. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *48*(11), 2339–2342. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001044>
- Westerblad, Håkan, & Allen, D. G. (2011). Emerging roles of ROS/RNS in muscle function and fatigue. *Antioxidants & Redox Signaling*, *15*(9), 2487–2499. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3909>
- Whittom, F., Jobin, J., Simard, P. M., Leblanc, P., Simard, C., Bernard, S., Belleau, R., & Maltais, F. (1998). Histochemical and morphological characteristics of the vastus lateralis muscle in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *30*(10), 1467–1474. <https://doi.org/10.1097/00005768-199810000-00001>
- Wilkie, D. J., Molokie, R., Boyd-Seal, D., Suarez, M. L., Kim, Y. O., Zong, S., Wittert, H., Zhao, Z., Sauntharajah, Y., & Wang, Z. J. (2010). Patient-Reported Outcomes: Descriptors of Nociceptive and Neuropathic Pain and Barriers to Effective Pain Management in Adult Outpatients With Sickle Cell Disease. *Journal of the National Medical Association*, *102*(1), 18–27. [https://doi.org/10.1016/S0027-9684\(15\)30471-5](https://doi.org/10.1016/S0027-9684(15)30471-5)

- Williams, D. A., Head, S. I., Bakker, A. J., & Stephenson, D. G. (1990). Resting calcium concentrations in isolated skeletal muscle fibres of dystrophic mice. *The Journal of Physiology*, *428*, 243–256.
- Williams, L. S., Garg, B. P., Cohen, M., Fleck, J. D., & Biller, J. (1997). Subtypes of ischemic stroke in children and young adults. *Neurology*, *49*(6), 1541–1545. <https://doi.org/10.1212/wnl.49.6.1541>
- Windhorst, U. (2007). Muscle proprioceptive feedback and spinal networks. *Brain Research Bulletin*, *73*(4–6), 155–202. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.03.010>
- Wood, K. C., Gladwin, M. T., & Straub, A. C. (2020). Sickle cell disease: At the crossroads of pulmonary hypertension and diastolic heart failure. *Heart (British Cardiac Society)*, *106*(8), 562–568. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2019-314810>
- Wu, L.-C., Sun, C.-W., Ryan, T. M., Pawlik, K. M., Ren, J., & Townes, T. M. (2006). Correction of sickle cell disease by homologous recombination in embryonic stem cells. *Blood*, *108*(4), 1183–1188. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-02-004812>
- Yam, M. F., Loh, Y. C., Tan, C. S., Khadijah Adam, S., Abdul Manan, N., & Basir, R. (2018). General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(8). <https://doi.org/10.3390/ijms19082164>
- Yates, A. M., Dedeken, L., Smeltzer, M. P., Lebensburger, J. D., Wang, W. C., & Robitaille, N. (2013). Hydroxyurea treatment of children with hemoglobin SC disease. *Pediatric Blood & Cancer*, *60*(2), 323–325. <https://doi.org/10.1002/pbc.24283>
- Yawn, B. P., Buchanan, G. R., Afenyi-Annan, A. N., Ballas, S. K., Hassell, K. L., James, A. H., Jordan, L., Lanzkron, S. M., Lottenberg, R., Savage, W. J., Tanabe, P. J., Ware, R. E., Murad, M. H., Goldsmith, J. C., Ortiz, E., Fulwood, R., Horton, A., & John-Sowah, J. (2014). Management of sickle cell disease: Summary of the 2014 evidence-based report by expert panel members. *JAMA*, *312*(10), 1033–1048. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.10517>
- Yazdanbakhsh, K., Ware, R. E., & Noizat-Pirenne, F. (2012). Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: Pathophysiology, risk factors, and transfusion management. *Blood*, *120*(3), 528–537. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-327361>
- Yoshiko, A., Tomita, A., Ando, R., Ogawa, M., Kondo, S., Saito, A., Tanaka, N. I., Koike, T., Oshida, Y., & Akima, H. (2018). Effects of 10-week walking and walking with home-based resistance training on muscle quality, muscle size, and physical functional tests in healthy older

- individuals. *European Review of Aging and Physical Activity*, 15.
<https://doi.org/10.1186/s11556-018-0201-2>
- Zajac, F. E. (1989). Muscle and tendon: Properties, models, scaling, and application to biomechanics and motor control. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 17(4), 359–411.
- Zalavras, C. G., & Lieberman, J. R. (2014). Osteonecrosis of the femoral head: Evaluation and treatment. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 22(7), 455–464.
<https://doi.org/10.5435/JAAOS-22-07-455>
- Žižková, P., Viskupičová, J., Blaškovič, D., Štrosová, M. K., Žarkovič, N., & Horáková, L. (2014). Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase from rabbit skeletal muscle modified by peroxynitrite. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(4), 563–570.
<https://doi.org/10.3109/14756366.2013.827676>

ANNEXE 1

Effet d'une naissance prématurée sur la réponse du stress oxydatif à un exercice en normoxie et en hypoxie

Martin A, Millet G, Osredkar D, Mramor M, Faes C, **Gouraud E**, Debevec T, Pialoux V.

Publié dans *Redox Biology* [IF₂₀₁₉=9.98]



Effect of pre-term birth on oxidative stress responses to normoxic and hypoxic exercise

Agnes Martin^{a,b,c}, Grégoire Millet^d, Damjan Osredkar^e, Minca Mramor^f, Camille Faes^{a,i}, Etienne Gouraud^{a,i}, Tadej Debevec^{f,g,h,1}, Vincent Pialoux^{a,i,j,s,1}

^a Univ Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité EA 7424, Faculté de Médecine Rockefeller, 69008 Lyon, France

^b Univ Lyon, Université Jean Monnet Saint-Etienne, Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité EA 7424, Faculté de Médecine, Campus Santé Innovation, 10 rue de la Marandière 10 rue de la Marandière, Saint-Priest-en-Jarez, France

^c Univ Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Master BioSciences, Department of Biology, École Normale Supérieure de Lyon, 46 allée d'Italie, 69364 LYON CEDEX 07, Lyon, France

^d ISSUL, Institute of Sport Sciences, Faculty of Biology and Medicine, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland

^e Department of Pediatric Neurology, University Children's Hospital Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

^f Faculty of Sport, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

^g Department of Pediatric Emergency, University Children's Hospital Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

^h Department of Automation, Biocybernetics and Robotics, Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia

ⁱ Laboratory of Excellence GR-Ex, Paris, France

^j Institut Universitaire de France, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Altitude
Exercise
Nitrosative stress
Normobaric hypoxia
Oxidative stress
Prematurity

ABSTRACT

Pre-term birth is a major health concern that occurs in approximately 10% of births worldwide. Despite high incidence rate, long-term consequences of pre-term birth remain unclear. Recent evidence suggests that elevated oxidative stress observed in pre-term born infants could persist into adulthood. Given that oxidative stress is known to play an important role in response to physical activity and hypoxia, we investigated whether oxidative stress responses to acute exercise in normoxia and hypoxia may be differently modulated in pre-term vs. full-term born adults. Twenty-two pre-term born and fifteen age-matched full-term born controls performed maximal incremental cycling tests in both normoxia (FiO₂: 0.21) and normobaric hypoxia (FiO₂: 0.13; simulated altitude of 3800 m) in blinded and randomized manner. Plasma levels of oxidative stress (advanced oxidation protein products [AOPP] and malondialdehyde), antioxidant (ferric reducing antioxidant power, glutathione peroxidase, catalase [CAT] and superoxide dismutase [SOD]) and nitrosative stress markers (nitrotyrosine, nitrite and total nitrite and nitrate [NOx]) were measured before and immediately after each test. AOPP (+24%, $P < 0.001$), CAT (+38%, $P < 0.001$) and SOD (+12%, $P = 0.018$) and NOx (+17%, $P = 0.024$) significantly increased in response to exercise independently of condition and birth status. No difference in response to acute exercise in normoxia was noted between pre-term and full-term born adults in any of measured markers. Hypoxic exposure during exercise resulted in significant increase in AOPP (+45%, $P = 0.008$), CAT (+55%, $P = 0.019$) and a trend for an increase in nitrite/nitrate content (+35%, $P = 0.107$) only in full-term and not pre-term born individuals. These results suggest that prematurely born adult individuals exhibit higher resistance to oxidative stress response to exercise in hypoxia.

1. Introduction

Pre-term birth (PTB), defined as birth occurring prior to the 37th

week of gestation, represents approximately 10% of the births worldwide [1] and is among the leading causes of death for the under-5 year olds [2]. However, continuous progress in neonatology during the last

* Corresponding author. Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité (LBM, EA7424), Faculté de Médecine Rockefeller, 69008, Lyon, France.

E-mail addresses: agnes.martin@ens-lyon.org (A. Martin), gregoire.millet@unil.ch (G. Millet), damjan.osredkar@kclj.si (D. Osredkar), minca.mramor@ukclj.si (M. Mramor), camille.faes@univ-lyon1.fr (C. Faes), etienne.gouraud@univ-lyon1.fr (E. Gouraud), tadej.debevec@fsp.uni-lj.si (T. Debevec), vincent.pialoux@univ-lyon1.fr (V. Pialoux).

¹ These authors equally contributed to the supervision of this study.

<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101497>

Received 3 December 2019; Received in revised form 23 February 2020; Accepted 4 March 2020

Available online 05 March 2020

2213-2317/ © 2020 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Abbreviations list			
AMS	acute mountain sickness	MDA	malondialdehyde
AOPP	advanced oxidation protein products	NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen
CAT	catalase	NOx	total nitrite and nitrate
DAN	2,3-diaminonaphtalene	NTB	nitrobluetretazolium
dSpO ₂	arterial blood desaturation	PTB	pre-term birth
dVE	ventilation variation	O ₂ ⁻	superoxide anion
FRAP	ferric reducing antioxidant power	ROS	reactive oxygen species
GPx	glutathione peroxidase	SOD	superoxide dismutase
GSH	reduced glutathione	SpO ₂	capillary oxygen saturation
HVR	hypoxic ventilatory response	TBA	2-thiobarbituric
H ₂ O ₂	hydrogen peroxide	VE	ventilation
		VO ₂	oxygen uptake

50 years resulted in significantly greater survival rates [3], consequently leading to increased pre-term born population. A growing body of literature describes the long-term consequences of PTBs [4,5]. In particular, many of the physiological mechanisms linked to the detrimental consequences of PTB could be associated with elevated oxidative stress levels [6]. However, surprisingly only one study to date investigated the oxidative stress levels in adolescents (13–15 years) born very pre-term [7] and no data exists on the oxidative stress modulation in adults pre-term born [8].

Oxidative stress is defined as an imbalance between the generation of oxidant species, also termed reactive oxygen species (ROS), and antioxidants in favor of the former [9]. It is well established that many external factors can modulate oxidative stress level including physical exercise [10,11] and hypoxia [11,12]. In addition, the combination of both hypoxia and acute exercise is also known to have cumulative augmentative effect on oxidative stress [11,13–16]. However, the deleterious outcomes related to hypoxia-induced increased oxidative stress remain controversial and might be limited to extreme altitude [16] or to pathological conditions [17]. Nevertheless, the oxidative stress responses to both, exercise [10] and hypoxia [18] seem to importantly modulate the physiological adaptation of humans to these two stimuli.

Several studies reported reduced physical capacity in normoxia in adults born pre-term compared to those born full-term [19–23]. Additionally, it has been shown that at rest, hypoxic ventilatory response (HVR), defined as the ability to change ventilation in function of blood oxygen saturation, was lower in adults born pre-term than in adults born full-term [24]. However, to our knowledge, only one study investigated physical performance under hypoxia in pre-term and reported no difference with adults born full-term [23]. Moreover, because of the previously reported higher oxidative stress levels in adults born pre-term [7] and the above mentioned importance of oxidative stress adaptation to chronic exercise and hypoxia, the interaction between these two factors warrants scrutiny.

Accordingly, we aimed to investigate the oxidative stress responses to acute exercise in normoxia and normobaric hypoxia in individuals born pre-term as compared to age and aerobic capacity matched controls born at full-term.

2. Material and methods

2.1. Participants

Collectively, thirty-seven healthy men volunteered and gave written informed consent to participate in this study. All participants were free of cardiorespiratory and haematological diseases and were not exposed to altitudes above 1500 m during the one-month period prior to the study. The baseline characteristics of the participants are outlined in Table 1. Twenty-two participants were born pre-term and 15 were born full-term. The experimental protocol was approved by the National

Medical Ethics Committee of Slovenia and performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. The study was also pre-registered at ClinicalTrials.gov (NCT02780908) (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02780908?term=NCT02780908&rank=1>).

2.2. Incremental exercise tests

The participants performed two graded exercise test on an electromagnetically braked cycle-ergometer (Ergo Bike Premium, Daum electronics, Fürth, Germany) under normoxic (F_IO₂=0.21; P_IO₂=147mmHg) and normobaric hypoxic (F_IO₂=0.13; P_IO₂=91mmHg) conditions in a randomized manner. They were blinded in regards to F_IO₂ of the gas mixture they were inspiring on both occasions. Both tests were performed at the same time of the day for each individual. The test protocol started at 60W with an increase of 40W every 2 min until volitional exhaustion. The normoxic and hypoxic tests were separated by exactly 7 days.

Throughout the tests the participants breathed through a facemask (Vmask, 7500 series, Hans Rudolph Inc., Shawnee, USA) and oxygen uptake (VO₂) and ventilation (VE) were measured using a metabolic cart (Quark CPET, Cosmed, Rome, Italy). Capillary oxygen saturation (SpO₂) was measured using a transcutaneous finger pulse oximetry device (Nellcor, BCI 3301, Boulder, USA).

2.3. Physiological response measurement

The methodological details of the cardiorespiratory measurements during both, normoxic and hypoxic incremental exercise tests are detailed elsewhere [25]. Arterial blood desaturation (dSpO₂) was calculated as the difference between SpO₂ measured at volitional exhaustion during the incremental test and the SpO₂ at rest before beginning the test. The ventilation variation (dVE) was defined as the difference between the VE measured at volitional exhaustion during the incremental test and the VE at rest before beginning the test. HVR was computed as $\frac{dVEh}{dSpO_2h}$ where *dVEh* represents the difference between ventilation at

Table 1
Baseline characteristics of the participants.

Variable	Full-term (n = 15)		Pre-term (n = 22)	
	Mean	SD	Mean	SD
Age (years)	22	2	21	2
Body mass (kg)	73	6	69	7
Height (cm)	180	5	175***	7
BMI (kg.m ⁻²)	23	2	23	3
Gestational age (weeks)	39	2	29***	3
$\dot{V}O_{2max}$ (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	52	5	48	6

SD, standard deviation; BMI, body mass index; $\dot{V}O_{2max}$, maximal oxygen consumption. ****P* < 0.0001 vs term.

exhaustion in hypoxia and ventilation at rest in normoxia and $dSpO_2h$ represents the difference between SpO_2 at exhaustion in hypoxia and SpO_2 at rest in normoxia [26,27].

2.4. Blood sampling

Six mL of venous blood were obtained from the antecubital vein of the seated participants before and within 1 min following the incremental exercise. Blood samples were drawn into ethylenediaminetetraacetic acid blood collection tubes, centrifuged (10min at 3500rpm, 4 °C) and the plasma was aliquoted into three 1.5 mL cryotubes, which were immediately frozen to -20 °C and to -80 °C.

2.5. Biochemical analysis

All spectrophotometry and fluorometry measurements were performed with TECAN Infinite 2000 plate reader (Männedorf, Switzerland) as previously reported [28].

2.6. Oxidative stress markers

Advanced oxidation protein products (AOPP) levels were measured via spectrophotometry by reading at 340 nm 40 μ L of plasma diluted in 200 μ L of PBS 1X and with 20 μ L of acetic acid (99–100%) in 96 well microtest plates. AOPP level was computed using chloramine-T standard solution, which absorb at 340 nm in presence of potassium iodide.

Malondialdehyde (MDA) level was determined by adding NaOH, 2-thiobarbituric acid (TBA) and HCl solutions to 50 μ L of plasma. After 1 h at 100 °C, MDA form a complex with TBA that can be measured by spectrophotometry in 96 well microtest plates at 532 nm. MDA level was computed using 1,1,3,3-tetraethoxypropane as standard.

2.7. Antioxidant enzymes

Catalase activity was determined by measuring the kinetics of formaldehyde apparition formed by the reaction between methanol and hydrogen peroxide (H_2O_2), which is catalyzed by catalase. 30 μ L of methanol (100%) and 20 μ L of H_2O_2 solution (0.14%) were added to 20 μ L of plasma diluted in 100 μ L of PBS 1X in 96 well microtest plates. Twenty minutes later the reaction was stopped by adding 30 μ L of potassium hydroxide solution (10.69mol·L⁻¹). Formaldehyde was revealed by adding 30 μ L of purpald solution (0.20mol·L⁻¹) and its concentration was measured 5 min later by spectrophotometry at 540 nm and computed using formaldehyde standards.

Glutathione peroxidase (GPx) activity was assessed by measuring nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (NADPH) consumption, which is proportional to GPx activity to reduce H_2O_2 in presence of glutathione reductase and reduced glutathione. Glutathione reductase, NADPH (10 mmol·L⁻¹) and reduced glutathione solutions were added to 20 μ L of plasma diluted in 200 μ L of PBS 1X in 96 well microtest plates. 30 μ L of H_2O_2 solution was then added and NADPH oxidation into NAD⁺ was measured during 5 min by spectrophotometry

at 340 nm.

Superoxide dismutase (SOD) activity measurement was based on the higher affinity of SOD to react with superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) than nitrobluetetrazolium (NTB), which produce detectable blue formazan. 250 μ L of a solution containing NTB, trizmahydrochloride, diethylenetriaminepentaacetic acid and hypoxanthine is added to 20 μ L of plasma in 96 well microtest plates. Then, 20 μ L of xanthine oxidase (1.02U·mL⁻¹) were added and react with hypoxanthine to produce $O_2^{\cdot-}$. Appearance of blue formazan is measured by spectrophotometry at 560 nm during 5 min. SOD activity is computed by subtracting the rate of blue formazan appearance with deproteinized plasma (blank) to those with plasma sample.

2.8. Ferric reducing antioxidant power

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) was determined by measuring the ability of the plasma to reduce ferric into ferrous iron. 17 μ L of ferric chloride solution (20 mmol·L⁻¹), 17 μ L of tripyridyl-triazine solution (8 mmol·L⁻¹) and 167 μ L of acetate solution (300 mmol·L⁻¹) were added to 20 μ L of plasma diluted in 40 μ L of H_2O in 96 well microtest plates. Ferrous iron forms a complex with tripyridyl-triazine at low pH that can be measured by spectrophotometry at 593 nm and computed with ferrous iron solution ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) standards.

2.9. Metabolites of NO

Nitrite levels were detected by using 2,3-diaminonaphtalene (DAN) that fixes nitrite and emits at 450 nm after an excitation at 365nm. 18 μ L of DAN solution containing DAN and HCl was added to 10 μ L of plasma diluted in 90 μ L of H_2O in 96 well microtest plates. 10 min later, the reaction was stopped with 18 μ L of NaOH solution. Nitrite level was measured by fluorometry (excitation at 365 nm and emission at 450 nm) and computed with NO_2 standards.

To measure total nitrite and nitrate (NO_x) level, nitrate was reduced into nitrite and nitrite was then measured as described above. 40 μ L of nitrate reductase solution was added to 10 μ L of plasma in 96 well microplates and 15 min later 50 μ L of H_2O was added. Then nitrite level is then determined as described above.

2.10. Statistics

R (version 3.3.2) with *nlme* [29] and *multcomp* [30] packages was used to perform linear mixed effects analyses with condition (normoxia vs. hypoxia), time (pre vs. post exercise) and birth (full-term vs. pre-term) and their interactions as fixed effects and a random effect for participants after checking for normality and homoscedasticity. Significance level was set *a priori* at $P < 0.05$ and a tendency was set at $P < 0.1$.

Table 2
Physiological response to graded exercise in normoxia and hypoxia in adults born full-term or pre-term.

Birth	Full-term (n = 15)		Pre-term (n = 22)		P values		
	Normoxia	Hypoxia	Normoxia	Hypoxia	Hypoxia	Birth	Birthxhypoxia
$\dot{V}O_{2peak}$ (mL·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	52 (5)	45 (4)	48 (6)	42 (7)	< 0.0001	0.08	NS
PPO (W)	322 (33)	273 (28)	272 (39)	235 (36)	< 0.0001	0.008	0.01
dSpO ₂ (%)	5.64 (4.14)	23.71 (4.75)	2.29 (2.69)	21 (5.18)	< 0.0001	0.006	NS
dVE (L·min ⁻¹)	110.1 (25.1)	124.9 (26.2)	99.5 (28.4)	107.3 (31.2)	0.049	0.09	NS
HVR (L·min ⁻¹ ·% ⁻¹)	5.44 (1.80)		5.55 (1.98)			NS	

Values are presented as means (SD). Abbreviations: $\dot{V}O_{2peak}$, peak oxygen consumption; PPO, peak power output dSpO₂, arterial blood oxygen desaturation; dVE, ventilation variation; HVR, hypoxic ventilatory response; NS, not significant. These results are detailed elsewhere [25].

3. Results

3.1. Exercise cardio-respiratory responses

The general cardio-respiratory responses to normoxic and hypoxic exercise are detailed elsewhere [25] but are summarized in Table 2 for the convenience of the reader. Expectedly, dSpO₂ was significantly higher during acute exercise in hypoxia than in normoxia independently of birth (3.5% during normoxic exercise vs. 21.6% during hypoxic exercise; pooled data; $P < 0.0001$) but dSpO₂ was lower in participants born pre-term than full-term (-22%, $P < 0.01$) independently of the condition. Furthermore, dVE during an acute exercise was greater in hypoxia than in normoxia independently of birth (+11%, $P < 0.05$) and tended to be lower in participants born pre-term than full-term in normoxia and hypoxia ($P = 0.09$). However, there was no difference in exercise HVR between the full-term and pre-term born participants.

3.2. Oxidative stress responses to exercise

The responses of the measured oxidative stress and antioxidant markers to exercise are detailed in Table 3 and Fig. 1. While plasma AOPP significantly increased in response to exercise independently of the condition and/or birth status (+24%, $P < 0.001$), the levels of MDA remained constant ($P = 0.182$). Similarly, the catalase and SOD activity significantly increased in response to exercise regardless of birth and condition (+38%, $P < 0.001$ and +12%, $P = 0.018$ respectively for catalase and SOD) while GPx activity significantly decreased following exercise (-22%, $P < 0.001$). FRAP tended to decrease following exercise independently of the condition and birth status ($P = 0.087$). Acute exercise also induced significantly increased NOx levels in both groups (+17%, $P = 0.024$) but did not change the levels of nitrite.

3.3. Oxidative stress responses to hypoxia

The responses of antioxidant and oxidative stress markers to hypoxic exercise are detailed in Table 3 and Fig. 1. Plasma AOPP levels increased significantly in response to hypoxia only in the full-term born individuals (+45% in full-term vs +5% in pre-term, $P = 0.008$) independently to exercise condition (i.e. exercise or rest) (Fig. 1A). However, no significant differences between MDA and FRAP responses to normoxic and hypoxic exercise were noted between full-term and pre-term born individuals. While the activity of SOD increased significantly in hypoxia compared to normoxia independently of birth and exercise condition (+14%, $P = 0.007$), the catalase activity was only increased in hypoxia in the full-term born participants (+55% in full-term vs +3% in pre-term, $P = 0.019$) independently to exercise condition (i.e. exercise or rest) (Fig. 1C). The GPx levels tended to decrease in response to hypoxia in both groups ($P = 0.091$). Plasma nitrite levels

were significantly lower in hypoxia than in normoxia (-16%, $P = 0.015$) independently of birth and exercise condition (i.e. exercise or rest) whereas hypoxia-induced increase in NOx levels tend to be only noted in the full-term born individuals (+35% in full-term vs +5% in pre-term, $P = 0.107$) (Fig. 1H).

4. Discussion

The present study aimed to investigate the potential differential oxidative and nitrosative stress responses to acute exercise in normoxia and hypoxia in individuals born pre-term as compared to matched controls born at full-term. Our data show a similar exercise-induced increase in oxidative stress and antioxidant activity in pre-term and full-term. In addition, and in contrast to full-term born adults, the plasma AOPP, catalase and NOx responses to hypoxia does not increase compared to normoxic conditions in adults born prematurely and suggest higher resistance to oxidative stress in this population.

4.1. Oxidative stress responses to exercise

As already demonstrated in adults born full-term [10,11], acute exercise resulted in increased oxidative stress markers and antioxidant enzymes activity in the pre-term born individuals. This is most likely due to exercise-induced ROS overproduction [10]. Independently of birth, we found that acute exercise augmented the plasma levels of AOPP, while no significant change was noted in MDA. The changes in MDA levels in response to acute graded exercise remains controversial [31]. Indeed, some studies reported increased level of plasma MDA in similar condition [13,32–35] while others did not find any significant changes [14,36–38]. The observed non-significant increase in MDA (+9%, $P = 0.182$) could be explained by the reported moderate sensitivity and specificity of the employed MDA assay [39]. The catalase and SOD activity increased in response to exercise independently of birth, confirming the previously documented exercise-related upregulation of antioxidant enzymes activity [40]. However, in contrast to some studies [40,41], we observed a decreased GPx activity in response to exercise regardless of the birth status. Nevertheless, this could be explained by the fact that reduced glutathione (GSH) is a limiting substrate for GPx activity and that lower GSH content in erythrocytes in response to acute exercise has been shown [42]. Since no effect of prematurity has been observed in response to acute exercise regarding oxidative stress markers, further investigations are clearly warranted to determine whether adults born pre-term may also have the same oxidative stress responses than adults born full-term after prolonged, chronic or intermittent exercise training.

4.2. Oxidative stress responses to hypoxia

The additive effects of hypoxia during exercise are clearly reflected in the increased AOPP levels observed in the full-term born individuals.

Table 3

P values for the main effects of condition (normoxia or hypoxia), birth (full-term or pre-term) and exercise (pre or post), and their interactions for oxidative or nitrosative stress plasma level.

Effect	Oxidative stress markers		Antioxidant enzymes			NO metabolism markers		
	AOPP	MDA	CAT	GPx	SOD	FRAP	Nitrite	NOx
Condition	0.003^a	0.115	0.024^a	0.091	0.007^a	0.278	0.015^a	0.023^a
Birth	0.735	0.319	0.854	0.278	0.237	0.449	0.119	0.687
Exercise	< 0.001^a	0.182	< 0.001^a	< 0.001^a	0.018^a	0.087	0.221	0.024^a
Condition×birth	0.008^a	0.234	0.019^b	0.346	0.564	0.367	0.218	0.107
Condition×exercise	0.919	0.318	0.679	0.519	0.230	0.861	0.208	0.556
Birth×exercise	0.832	0.140	0.912	0.858	0.823	0.937	0.898	0.663
Condition×birth×exercise	0.551	0.872	0.483	0.590	0.602	0.551	0.653	0.937

AOPP, advanced oxidation protein products; CAT, catalase activity; FRAP, ferric reducing antioxidant power; GPx, glutathione peroxidase activity; NOx, total nitrite and nitrate; SOD, superoxide dismutase activity.

^a Significant effects or interactions.

[8]. However, no significant differences were observed between the two groups in baseline oxidative stress markers. Nevertheless, and although we hypothesized that an exacerbated oxidative stress in response to both, hypoxia and graded exercise would be noted in the pre-term born individuals, it seems that prematurely born adults developed adaptive mechanisms to face up to high oxygen variations early in life, known to generate high amount of ROS, that may limit oxidative stress and NO metabolism to hypoxia. Whether this greater resistance to oxidative stress response to hypoxia could be beneficial or detrimental adaptive mechanism in the pre-term born adults needs to be determined.

4.3. Exercise cardio-respiratory responses

While Bates et al. observed a reduced HVR at rest in adults born pre-term [24], we confirmed their findings at rest [25] but not during exercise. This could mean that the stimulus of an incremental exercise on ventilation can outmatch/override the potential effect of hypoxia in the participants born pre-term. In any case, the blunted HVR at rest in participants born pre-term could be linked with the lower oxidative stress in response to hypoxia in participants born pre-term since a positive correlation between that changes in oxidative stress and HVR has previously been reported [43,44]. However, ventilatory response to hypoxia has also been related to the risk of altitude illness but with very limited sensitivity and specificity [27]. Interestingly, there seems to be no epidemiologic data on the incidence of acute mountain sickness (AMS) in the population born pre-term. Given the established influence and contribution of oxidative stress to AMS [45], our data provide strong impetus for future investigations on the AMS modulation in adults born pre-term since lower hypoxia-induced oxidative stress response was noted in this population. We should however be cautious regarding the direct translation of the present results to real high-altitude scenarios (hypobaric hypoxia) since we previously demonstrated that normobaric hypoxic exposure (i.e. simulated altitude) results in a lower oxidative stress increase than exposure to hypobaric hypoxia [28,46]. Nevertheless, since both groups were exposed to the same, normobaric hypoxic condition the observed difference between the two groups in oxidative stress responses provide important new insight into the consequence of prematurity.

5. Conclusions

In conclusion, similarly to the full-term born adults, the pre-term individuals displayed an increased oxidative stress, antioxidant activity and NO metabolism in response to acute exercise. However, and in contrast to the full-term born individuals, we report for the first time that hypoxia did not increase plasma AOPP, catalase and NOx levels in the pre-term born cohort suggesting that they developed adaptive processes that lead to greater resistance to oxidative stress in response to acute hypoxic exposure. Although we did not find significant difference in the exercise HRV in adults born pre-term, mechanisms regarding ventilatory and oxidative stress modulation in the pre-term born individuals warrants further scrutiny to expand our understanding.

Funding information

This study was funded by Slovene Research Agency (Grant No. J3-7536) and Ljubljana University Medical Centre (Grant No. TP20140088) grants.

Author contribution statement

GM, DO, TD and VP participated in design the study; AM, MM, TD and VN performed the experiments; MM, DO and TD included the patients; AM, GM, CF, TD and VP analyzed and interpreted the results; AM, TD and VP wrote the manuscript; AM, EG, TD and VP revised the

manuscript; AM, EG, GM, DO, MM, CF, TD and VP reviewed manuscript drafts and edited the manuscript.

Declaration of competing interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Acknowledgements

We would like to thank Quentin Barge, Hugo Catois and Elise Madeuf for their help with the assays. We would also like to acknowledge Mr. Miro Vrhovc for his indispensable technical assistance throughout the study. This work was funded by Slovene Research Agency (Grant No. J3-7536) and Ljubljana University Medical Centre (Grant Nr-TP20140088).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101497>.

References

- [1] H. Blencowe, S. Cousens, M.Z. Oestergaard, D. Chou, A.-B. Moller, R. Narwal, A. Adler, C. Vera Garcia, S. Rohde, L. Say, J.E. Lawn, National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications, *Lancet* 379 (2012) 2162–2172, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60820-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60820-4).
- [2] L. Liu, S. Oza, D. Hogan, J. Perin, I. Rudan, J.E. Lawn, S. Cousens, C. Mathers, R.E. Black, Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis, *Lancet* 385 (2015) 430–440, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61698-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61698-6).
- [3] B.J. Manley, L.W. Doyle, M.W. Davies, P.G. Davis, Fifty years in neonatology, *J. Paediatr. Child Health* 51 (2015) 118–121, <https://doi.org/10.1111/jpc.12798>.
- [4] T.N.K. Raju, V.L. Pemberton, S. Saigal, C.J. Blaisdell, M. Moxey-Mims, S. Buist, Adults born preterm conference speakers and discussants, long-term healthcare outcomes of preterm birth: an executive summary of a conference sponsored by the national institutes of health, *J. Pediatr.* 181 (2017) 309–318.e1, <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.10.015>.
- [5] T.N.K. Raju, A.S. Buist, C.J. Blaisdell, M. Moxey-Mims, S. Saigal, Adults born pre-term: a review of general health and system-specific outcomes, *Acta Paediatr.* 106 (2017) 1409–1437, <https://doi.org/10.1111/apa.13880>.
- [6] Z.C. Luo, W.D. Fraser, P. Julien, C.L. Deal, F. Audibert, G.N. Smith, X. Xiong, M. Walker, Tracing the origins of “fetal origins” of adult diseases: programming by oxidative stress? *Med. Hypotheses* 66 (2006) 38–44, <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2005.08.020>.
- [7] M. Filippone, G. Bonetto, M. Corradi, A.C. Frigo, E. Baraldi, Evidence of unexpected oxidative stress in airways of adolescents born very pre-term, *Eur. Respir. J.* 40 (2012) 1253–1259, <https://doi.org/10.1183/09031936.00185511>.
- [8] A. Martin, C. Faes, T. Debevec, C. Rytz, G. Millet, V. Pialoux, Preterm birth and oxidative stress: effects of acute physical exercise and hypoxia physiological responses, *Redox Biology* 17 (2018) 315–322, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.04.022>.
- [9] V.I. Lushchak, Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification, *Chem. Biol. Interact.* 224 (2014) 164–175, <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>.
- [10] S.K. Powers, W.B. Nelson, M.B. Hudson, Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences, *Free Radic. Biol. Med.* 51 (2011) 942–950, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009>.
- [11] T. Debevec, G.P. Millet, V. Pialoux, Hypoxia-induced oxidative stress modulation with physical activity, *Front. Physiol.* 8 (2017), <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00084>.
- [12] J. Magalhães, A. Ascensão, G. Viscor, J. Soares, J. Oliveira, F. Marques, J. Duarte, Oxidative stress in humans during and after 4 hours of hypoxia at a simulated altitude of 5500 m, *Aviat Space Environ. Med.* 75 (2004) 16–22.
- [13] D.M. Bailey, B. Davies, I.S. Young, Intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men, *Clin. Sci.* 101 (2001) 465–475.
- [14] V. Pialoux, R. Mounier, E. Ponsot, E. Rock, A. Mazur, S. Dufour, R. Richard, J.-P. Richalet, J. Coudert, N. Fellmann, Effects of exercise and training in hypoxia on antioxidant/pro-oxidant balance, *Eur. J. Clin. Nutr.* 60 (2006) 1345–1354, <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602462>.
- [15] J.D.S. Woodside, M. Gutowski, L. Fall, P.E. James, J. McEneny, I.S. Young, S. Ogoh, D.M. Bailey, Systemic oxidative-nitrosative-inflammatory stress during acute exercise in hypoxia; implications for microvascular oxygenation and aerobic capacity, *Exp. Physiol.* 99 (2014) 1648–1662, <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2014>.

- 081265.
- [16] J. Quindry, C. Dumke, D. Slivka, B. Ruby, Impact of extreme exercise at high altitude on oxidative stress in humans, *J. Physiol.* 594 (2016) 5093–5104, <https://doi.org/10.1113/JP270651>.
- [17] D.M. Bailey, S.F. Rimoldi, E. Rexhaj, L. Pratali, C. Salinas Salmòn, M. Villena, J. McEneny, I.S. Young, P. Nicod, Y. Allemann, U. Scherrer, C. Sartori, Oxidative-nitrosative stress and systemic vascular function in highlanders with and without exaggerated hypoxemia, *Chest* 143 (2013) 444–451, <https://doi.org/10.1378/chest.12-0728>.
- [18] V. Pialoux, R. Mounier, A.D. Brown, C.D. Steinback, J.M. Rawling, M.J. Poulin, Relationship between oxidative stress and HIF-1 α mRNA during sustained hypoxia in humans, *Free Radic. Biol. Med.* 46 (2009) 321–326, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.10.047>.
- [19] E.J.L.E. Vrijlandt, J. Gerritsen, H.M. Boezen, R.G. Grevink, E.J. Duiverman, Lung function and exercise capacity in young adults born prematurely, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 173 (2006) 890–896, <https://doi.org/10.1164/rccm.200507-1140OC>.
- [20] J. Svedenkrans, E. Henckel, J. Kowalski, M. Norman, K. Bohlin, Long-term impact of preterm birth on exercise capacity in healthy young men: a national population-based cohort study, *PLoS One* 8 (2013), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080869>.
- [21] A.T. Lovering, S.S. Laurie, J.E. Elliott, K.M. Beasley, X. Yang, C.E. Gust, T.S. Mangum, R.D. Goodman, J.A. Hawn, I.M. Gladstone, Normal pulmonary gas exchange efficiency and absence of exercise-induced arterial hypoxemia in adults with bronchopulmonary dysplasia, *J. Appl. Physiol.* 115 (2013) 1050–1056, <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00592.2013>.
- [22] H.H. Clemm, M. Vollsæter, O.D. Røksund, G.E. Eide, T. Markestad, T. Halvorsen, Exercise capacity after extremely preterm birth. Development from adolescence to adulthood, *Annals ATS* 11 (2014) 537–545, <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201309-311OC>.
- [23] E.T. Farrell, M.L. Bates, D.F. Pegelow, M. Palta, J.C. Eickhoff, M.J. O'Brien, M.W. Eldridge, Pulmonary gas exchange and exercise capacity in adults born preterm, *Ann Am Thorac Soc* 12 (2015) 1130–1137, <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201410-470OC>.
- [24] M.L. Bates, E.T. Farrell, M.W. Eldridge, Abnormal ventilatory responses in adults born prematurely, *N. Engl. J. Med.* 370 (2014) 584–585, <https://doi.org/10.1056/NEJMc1311092>.
- [25] T. Debevec, V. Pialoux, G.P. Millet, A. Martin, M. Mramor, D. Osredkar, Exercise overrides blunted hypoxic ventilatory response in prematurely born men, *Front. Physiol.* 10 (2019), <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00437>.
- [26] C. Rathat, J.-P. Richalet, J.-P. Herry, P. Larmignat, Detection of high-risk subjects for high altitude diseases, *Int. J. Sports Med.* 13 (1992) S76–S78, <https://doi.org/10.1055/s-2007-1024602>.
- [27] P. Bärtsch, E.R. Swenson, Acute high-altitude illnesses, *N. Engl. J. Med.* 368 (2013) 2294–2302, <https://doi.org/10.1056/NEJMc1214870>.
- [28] R. Faiss, V. Pialoux, C. Sartori, C. Faes, O. DéRiaz, G.P. Millet, Ventilation, oxidative stress, and nitric oxide in hypobaric versus normobaric hypoxia, *Med. Sci. Sports Exerc.* 45 (2013) 253–260, <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31826d5aa2>.
- [29] J. Pinheiro, D. Bates, S. DebRoy, D. Sarkar, Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, R Package Version, 2009 3–1.
- [30] T. Hothorn, F. Bretz, P. Westfall, R.M. Heiberger, A. Schuetzenmeister, S. Scheibe, M.T. Hothorn, Package 'multcomp,' Simultaneous Inference in General Parametric Models, Project for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016 <http://ftp5.gwdg.de/pub/misc/cran/web/packages/multcomp/multcomp.pdf>, Accessed date: 20 May 2017.
- [31] P.M. Clarkson, H.S. Thompson, Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am. J. Clin. Nutr.* 72 (2000) 637s–646s.
- [32] R. Lovlin, W. Cottle, I. Pyke, M. Kavanagh, A.N. Belcastro, Are indices of free radical damage related to exercise intensity, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 56 (1987) 313–316.
- [33] S. Sumida, K. Tanaka, H. Kitao, F. Nakadomo, Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation, *Int. J. Biochem.* 21 (1989) 835–838.
- [34] T. Ashton, C.C. Rowlands, E. Jones, I.S. Young, S.K. Jackson, B. Davies, J.R. Peters, Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 77 (1998) 498–502, <https://doi.org/10.1007/s004210050366>.
- [35] T. Ashton, I.S. Young, J.R. Peters, E. Jones, S.K. Jackson, B. Davies, C.C. Rowlands, Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study, *J. Appl. Physiol.* 87 (1999) 2032–2036.
- [36] L. Viinikka, J. Vuori, O. Ylikorkala, Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane A2 in runners during acute exercise, *Med. Sci. Sports Exerc.* 16 (1984) 275–277.
- [37] D.A. Leaf, M.T. Kleinman, M. Hamilton, T.J. Barstow, The effect of exercise intensity on lipid peroxidation, *Med. Sci. Sports Exerc.* 29 (1997) 1036–1039.
- [38] J.C. Quindry, W.L. Stone, J. King, C.E. Broeder, The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress, *Med. Sci. Sports Exerc.* 35 (2003) 1139–1145, <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000074568.82597.0B>.
- [39] G. Lefèvre, M. Beljean-Leymarie, F. Beyerle, D. Bonnefont-Rousselot, J.P. Cristol, P. Théron, J. Torrelles, [Evaluation of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances], *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 56 (1998) 305–319.
- [40] C. Berzosa, I. Cebrián, L. Fuentes-Broto, E. Gómez-Trullén, E. Piedrafita, E. Martínez-Ballarín, L. López-Pingarrón, R.J. Reiter, J.J. García, Acute exercise increases plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men, *J. Biomed. Biotechnol.* (2011) 1–7, <https://doi.org/10.1155/2011/540458> 2011.
- [41] R. Elosua, L. Molina, M. Fito, A. Arquer, J.L. Sanchez-Quesada, M.I. Covas, J. Ordoñez-Llanos, J. Marrugat, Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women, *Atherosclerosis* 167 (2003) 327–334, [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(03\)00018-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(03)00018-2).
- [42] P. Joanny, J. Steinberg, P. Robach, J.P. Richalet, C. Gortan, B. Gardette, Y. Jammes, Operation Everest III (Comex'97): the effect of simulated severe hypobaric hypoxia on lipid peroxidation and antioxidant defence systems in human blood at rest and after maximal exercise, *Resuscitation* 49 (2001) 307–314, [https://doi.org/10.1016/S0300-9572\(00\)00373-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9572(00)00373-7).
- [43] V. Pialoux, P.J. Hanly, G.E. Foster, J.V. Brugniaux, A.E. Beaudin, S.E. Hartmann, M. Pun, C.T. Duggan, M.J. Poulin, Effects of exposure to intermittent hypoxia on oxidative stress and acute hypoxic ventilatory response in humans, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 180 (2009) 1002–1009, <https://doi.org/10.1164/rccm.200905-0671OC>.
- [44] R. Mounier, A. Amonchot, N. Caillot, C. Gladine, B. Citron, M. Bedu, E. Chirico, J. Coudert, V. Pialoux, Pulmonary arterial systolic pressure and susceptibility to high altitude pulmonary edema, *Respir. Physiol. Neurobiol.* 179 (2011) 294–299, <https://doi.org/10.1016/j.resp.2011.09.011>.
- [45] D.M. Bailey, B. Davies, I.S. Young, D.A. Hullin, P.S. Seddon, A potential role for free radical-mediated skeletal muscle soreness in the pathophysiology of acute mountain sickness, *Aviat Space Environ. Med.* 72 (2001) 513–521.
- [46] A. Ribon, V. Pialoux, J.J. Saugy, T. Rupp, R. Faiss, T. Debevec, G.P. Millet, Exposure to hypobaric hypoxia results in higher oxidative stress compared to normobaric hypoxia, *Respir. Physiol. Neurobiol.* 223 (2016) 23–27, <https://doi.org/10.1016/j.resp.2015.12.008>.

ANNEXE 2 : Listes des communications en congrès

Communications orales

Novembre 2019 : Journées de la SFR Santé Lyon Est 2019, Lyon, France. Prix de la meilleure communication orale.

Octobre 2019 : Congrès de l'Association des Chercheurs en Activité Physique et Sportive (ACAPS) 2019, Paris, France.

Octobre 2019 : Journées de l'Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences et Santé (EDISS) 2018, Lyon, France.

Octobre 2017 : Congrès de l'Association des Chercheurs en Activité Physique et Sportive (ACAPS) 2017, Dijon, France.

Communications affichées

Octobre 2019 : Congrès du Club du Globule Rouge et du Fer (CGRF) 2019, Lyon, France. Prix du meilleur poster.

Juillet 2019 : European Congress of Sports Science 2019, Prague, République Tchèque.

Juin 2019 : Congrès de la Société de Physiologie et Biologie Intégrative (SPBI) 2019, Montpellier, France.

Novembre 2018 : Journées de la Société Française de Myologie (SFM) 2018, Brest, France.

Novembre 2018 : Journées de la SFR Santé Lyon Est 2018, Lyon, France. Prix du meilleur poster.

Octobre 2018 : Journées de l'Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences et Santé (EDISS) 2018, Lyon, France. Prix du meilleur poster.

Résumé : La drépanocytose est une maladie caractérisée par la production d'une hémoglobine mutée, l'hémoglobine S, dont la forme homozygote S/S et hétérozygote S/C, et qui se traduit par des complications cliniques multi-organiques. Ils présentent une capacité à l'exercice réduite dont les causes sont des altérations cardio-vasculaires cependant l'implication du muscle squelettique n'est pas encore totalement caractérisée. En effet, le muscle drépanocytaire présente une amyotrophie, un remodelage profond de la microcirculation et une diminution de sa capacité à produire de la force cependant la présence d'une dysfonction musculaire à l'exercice n'a pas encore été décrite. De plus, plusieurs études suggèrent que le stress oxydatif serait élevé dans le muscle drépanocytaire expliquant ainsi en partie les altérations observées. L'exercice chronique aérobie est connu pour améliorer la capacité antioxydante musculaire cependant, les effets de ce type d'exercice sur le stress oxydatif n'ont pas encore été caractérisés dans la drépanocytose. Ainsi, les objectifs de cette thèse sont de 1) mettre en évidence une dysfonction musculaire chez des patients drépanocytaires S/S et S/C et de 2) déterminer les modifications induites par un exercice chronique aérobie sur le stress oxydatif au sein du muscle squelettique dans un modèle murin drépanocytaire. Une première étude clinique a montré que les patients drépanocytaires S/S et S/C présentent une dysfonction musculaire marquée, caractérisée par une fatigabilité accrue du quadriceps. Cette dysfonction semble résulter d'altérations intramusculaires spécifiques à la pathologie plutôt que de la sévérité clinique des patients. En parallèle, une seconde étude menée dans un modèle murin sévère de la pathologie, le modèle Townes, a mis en évidence que l'exercice chronique modérée aérobie entraînait une réponse altérée de la balance pro/antioxydante dans le muscle squelettique des souris S/S. En conclusion, les résultats de ce travail de thèse renforcent l'idée que le muscle squelettique constitue une cible thérapeutique d'intérêt dans la rééducation à l'exercice des patients drépanocytaires.

Mots-clés : Fatigue musculaire ; drépanocytose ; stress oxydatif ; entraînement aérobie

Impact of exercise on the skeletal muscle in sickle cell disease: characterization of muscle fatigability and of the effects of aerobic exercise on pro/antioxidant balance.

Abstract: Sickle cell disease (SCD) is a group of hemoglobin disorders sharing a nucleotide mutation in the β -globin gene, such as homozygous sickle cell anaemia (SS) and sickle cell-hemoglobin C disease (SC), with various clinical severities. SCD patients are characterized by a limited exercise capacity caused by cardiovascular abnormalities but skeletal muscle implication remains unclear. Recently, few studies characterized skeletal muscle in SS patients and showed an amyotrophy, a profound microvasculature remodeling and a decreased maximal strength however an exercise-induced skeletal muscle dysfunction are yet to be described in SCD patients. It was also hypothesized that oxidative stress may be increased and participate in the skeletal muscle abnormalities observed in SCD patients. Chronic aerobic exercise is known to increase the antioxidant capacity in the skeletal muscle, but the effects of this type of exercise have not been described in the skeletal muscle of SCD patients. Hence, the aim of this thesis work is 1) to characterize skeletal muscle function during exercise in S/S and S/C patients and 2) to study the effects of chronic exercise on pro/antioxidant balance in the skeletal muscle of transgenic sickle cell mice. In a first study it was shown that S/S and S/C patients exhibit a profound skeletal muscle dysfunction characterized by an increased fatigability of the quadriceps. Also, the skeletal muscle dysfunction seems to be explained by intramuscular alterations specific to sickle cell disease rather than the clinical severity. In a second study, Townes sickle cell mice performed 8 weeks of moderate aerobic exercise and we observed an altered response of pro/antioxidant balance in the skeletal muscle of S/S mice. To conclude, the results of this work strengthen the idea that skeletal muscle is a key therapeutic target in the exercise rehabilitation of sickle cell disease patients.

Keywords: Skeletal muscle fatigue; sickle cell disorders; oxidative stress; aerobic training