

UNIVERSITE DE STRASBOURG I – LOUIS PASTEUR

Année universitaire 2004/2005

N° attribué par la bibliothèque :

Thèse présentée pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université Louis Pasteur
Strasbourg I

Discipline : Sciences du Vivant

Domaine : Physiologie et Biologie des Organismes, Populations Interactions

Présentée et soutenue publiquement par

Stéphane DUFOUR

Le 2 décembre 2005

**Optimisation de la performance aérobie chez l'athlète:
Hypoxie intermittente à l'exercice et ergocycle excentrique
comme nouvelles approches de stimulations métaboliques et
mécaniques**

Membres du jury :

Directeur: M. Jean Lonsdorfer, Professeur, Strasbourg, France

Co-directrice: Mme Véronique Billat, Professeur, Evry, France

Rapporteur interne: M. Francis Schneider, Professeur, Strasbourg, France

Rapporteur externe: M. Philippe Obert, Professeur, Avignon, France

Rapporteur externe: M. Stéphane Perrey, Maître de Conférences, HDR, Montpellier, France

Examineur: M. Hans Hoppeler, Professeur, Berne, Suisse

Membre invité: M. Bertrand Mettauer, Docteur, HDR, Colmar, France

UNIVERSITE DE STRASBOURG I – LOUIS PASTEUR

Année universitaire 2004/2005

N° attribué par la bibliothèque :

Thèse présentée pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université Louis Pasteur
Strasbourg I

Discipline : Sciences du Vivant

Domaine : Physiologie et Biologie des Organismes, Populations Interactions

Présentée et soutenue publiquement par

Stéphane DUFOUR

Le 2 décembre 2005

Optimisation de la performance aérobie chez l'athlète: Hypoxie intermittente à l'exercice et ergocycle excentrique comme nouvelles approches de stimulation métabolique et mécanique

Membres du jury :

Directeur: M. Jean Lonsdorfer, Professeur, Strasbourg, France

Co-directrice: Mme Véronique Billat, Professeur, Evry, France

Rapporteur interne: M. Francis Schneider, Professeur, Strasbourg, France

Rapporteur externe: M. Philippe Obert, Professeur, Avignon, France

Rapporteur externe: M. Stéphane Perrey, Maître de Conférences, HDR, Montpellier, France

Examineur: M. Hans Hoppeler, Professeur, Berne, Suisse

Membre invité: M. Bertrand Mettauer, Docteur, HDR, Colmar, France

REMERCIEMENTS

A

M. le Professeur Francis SCHNEIDER,

M. le Professeur Philippe OBERT,

M. le Maître de Conférence Stéphane PERREY,

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de rapporter ce travail en dépit des délais très courts auxquels vous avez dû faire face.

M. le Professeur Jean LONSDORFER, en 2001 vous m'avez accueilli à bras ouverts à mon arrivée au laboratoire. Vous m'avez fait découvrir et partager votre vision "intégrée" de la physiologie de l'exercice et votre soutien sans failles m'a permis d'avancer dans la sérénité. En cela, vous avez été parfaitement secondé par Mireille, dont la bienveillance à mon égard n'est plus à démontrer. D'ailleurs, je cherche toujours le chocolat à 0%...Un grand merci à vous, pour avoir toujours eu une oreille attentive, contribuant à guider ma route pendant ces 4 années.

Mme le Professeur Véronique BILLAT, grâce à vous j'ai découvert la physiologie de l'exercice et une vision très passionnante de la performance sportive humaine. En tant que co-directrice de thèse, vous avez largement contribué à initier ce travail et nos discussions ont toujours été très riches d'enseignements. Je regrette simplement qu'elles n'aient pas été plus nombreuses.

M. le Professeur Hans HOPPELER, vous avez cette remarquable faculté d'expliquer très simplement des mécanismes qui sont en réalité loin de l'être. Mon admiration pour votre travail date de notre première rencontre à Horodberg en 2001 et n'a cessé de se confirmer par la suite. Votre présence à ma soutenance est pour moi un honneur.

Ruddy RICHARD, les heures passées au laboratoire l'ont souvent été en ta compagnie et je tiens à te remercier sincèrement pour ton engagement. Tu m'as éveillé au fonctionnement du petit monde de la recherche, tu as accompagné mes premiers pas d'orateur et surtout tu as déployé beaucoup d'efforts pour me faire acquérir la rigueur de l'écriture scientifique. Avec toutes mes excuses pour les "bois morts" que tu as tant chassés...

Bertrand METTAUER, les mots me manquent pour décrire exactement ce que j'éprouve. Ton soutien et ton implication ont été pour moi très réconfortants, ton optimisme est une potion

magique dont je me suis largement abreuvé et tes connaissances scientifiques ont contribué à me faire "grandir". Sache que je me sentirai longtemps très redevable des heures que tu es parvenu à me consacrer. En un mot: MERCI

Eliane LAMPERT, première co-directrice de "luxe", c'est vous qui avez guidé mes premiers pas au laboratoire. Vous avez ensuite été attirée par de très grandes vacances mais n'avez jamais réussi à m'oublier complètement. Votre fibre maternelle a souvent été très réconfortante. Merci pour ce soutien et pour les cartes postales!

Jean-Pierre SPEICH, notre ingénieur "maison" sans qui de nombreuses mesures réalisées dans le cadre de ce travail n'auraient jamais pu être obtenues. Un grand merci pour m'avoir bien souvent fait partager ta disponibilité, ton savoir-faire et tes conseils techniques avisés.

François PIQUARD et Bernard GENY, sachez que j'ai beaucoup apprécié vos sérieux coups de main face aux inévitables obstacles administratifs. En particulier, vous avez tous les deux répondu présents au montage de mes dossiers de postdoc. Je vous remercie donc sincèrement pour avoir toujours honoré mes multiples sollicitations.

Elodie, Joffrey, mention très spéciale pour ces 2 acolytes avec qui l'altitude, entre autres sujets, a bien souvent été une préoccupation commune. Bien que vous m'ayez progressivement abandonné (post-doc oblige!), je vous considère aujourd'hui comme des amis que je suis très heureux d'avoir rencontrés. Vos parcours me servent d'exemple et j'espère suivre rapidement vos traces.

Benoit, Valérie et Fred, vous avez assuré une bonne part de l'animation du laboratoire et contribué à l'exporter en d'autres lieux plus chaleureux... Surtout vous m'avez, chacun à votre niveau, passé un coup de main quand c'était nécessaire. Sachez que je vous en suis très reconnaissant et qu'en tant qu'amis vous pourrez compter sur moi à l'avenir.

Mes amis en dehors du laboratoire et mention spéciale pour Pierre, longtemps compagnon de route de premier choix, je t'ai peu à peu délaissé pour d'autres occupations. Sache que ce n'est pas l'envie qui m'a manqué et que nos discussions sur la performance et l'entraînement ont largement contribué à alimenter ma "curiosité scientifique". Un grand merci à vous tous pour votre soutien.

L'équipe médicale et technique de choc, Steph, Jacques, Eve, François, Christine, Sabine, Claudie, Martine, Sylvie, Denise, Agnès, Mimi, Nicole, pour avoir largement contribué à réaliser les quelques 150 tests d'efforts nécessaires à l'écriture de cette thèse, sans vous séparer de votre bonne humeur légendaire, souvent partagée jusqu'au bout du couloir....

L'équipe de l'UFR STAPS de Strasbourg, et notamment Laurence, Nicolas et Yao. Ce fut un plaisir pour moi de vous avoir pour collègues au cours de mes 2 années d'ATER à l'Institution. Vous m'avez toujours permis de mener de front ma thèse et mes enseignements, je tenais à vous en remercier sincèrement.

François, sans toi ces lignes auraient été imprimées beaucoup plus difficilement!! Merci pour ta disponibilité et ton savoir-faire si précieux.

A ma famille, merci pour votre soutien tant affectif que financier. Sans votre aide et vos encouragements, je n'aurais sans doute pas pu mener à bien cette aventure. Sachez que je suis conscient de la chance de vous avoir et j'espère qu'un jour ma propre famille pourra être aussi épanouie. Au fait maman, désolé pour l'orthographe...

Aline, notre rencontre a indéniablement enrichi ma vie et m'a apporté ce petit rayon de soleil permanent. Tu as su "comprendre" mes indisponibilités, et nos moments de bonheur partagés ont largement contribué à me faire tenir le cap. Un grand merci à tes parents et aux "Aviateurs"...

Les "cobayes", parce que sans eux rien n'aurait été possible. En acceptant de donner de leur temps, de leurs forces et parfois même un bout d'eux-mêmes, 31 volontaires différents ont participé aux expérimentations rapportées dans cette thèse, le tout sans jamais se plaindre, ni perdre le sourire. Merci à eux.

A mes parents,
A mon frère, Yannick
Et aussi à Aline,

RESUME

Les stimuli métaboliques et les stimuli mécaniques qui caractérisent la charge d'entraînement, sont considérés comme les principaux facteurs générateurs d'adaptations permettant d'améliorer la performance sportive, notamment d'endurance. Ce travail de thèse propose de s'intéresser à 2 méthodes particulières d'exercice permettant d'augmenter les stimuli respectivement métaboliques et mécaniques. Dans une première étude, l'entraînement en altitude intermittente est envisagé comme une approche permettant d'augmenter les stimuli métaboliques imposés à l'athlète, dans le but d'en identifier les effets sur la capacité de performance aérobie, la fonction mitochondriale et l'activité transcriptionnelle musculaire squelettique. Une amélioration de la capacité de performance aérobie ainsi que des aspects qualitatifs mais pas quantitatifs de la fonction mitochondriale a été observée. Ces résultats sont complétés par une élévation de la transcription de gènes impliqués notamment dans la détection de l'hypoxie tissulaire, le maintien de l'équilibre acido-basique cellulaire et le transport d'O₂ musculaire. Dans 2 études suivantes, l'ergocycle excentrique est envisagé comme une méthode d'exercice permettant d'élever les stimuli mécaniques générés par l'exercice. Les effets des stimuli mécaniques dans les ajustements circulatoires à l'exercice, sont caractérisés sur la base d'une épreuve d'effort progressive, puis lors d'exercices à puissance mécanique constante. Les informations obtenues indiquent un rôle important des stimuli mécaniques sur la fréquence cardiaque (FC) et le débit cardiaque à l'exercice, et précisent les modalités d'utilisation de l'ergocycle excentrique comme modèle de stimulation mécanique. Ces résultats constituent une étape préliminaire à l'étude des effets potentiellement bénéfiques de l'entraînement en ergocycle excentrique sur la performance aérobie chez l'athlète.

ABSTRACT

Metabolic and mechanical loading are considered as the two main training components generating the training-induced adaptations as well as improvements in endurance performance. The present work proposed to investigate two specific training methods that put emphasis on either the metabolic or the mechanical load respectively with the objective to improve endurance performance. In a first study, training under intermittent altitude has been evaluated as a training method increasing the metabolic load placed on the athlete with the aim to determine the induced effects on the aerobic performance capacity, the skeletal muscle mitochondrial function and selected transcriptional activity. The results indicate that a moderate altitude exposure during exercise is sufficient to improve aerobic performance capacity and induced qualitative but not quantitative mitochondrial adaptations. Moreover, a specific effect of intermittent altitude training was identified on the transcriptional activity of genes implicated in the tissular oxygen sensing system, cellular acido-basic homeostasis as well as muscle oxygen transport. In two subsequent studies, eccentric cycling has been investigated as a mean to generate high levels of mechanical load. Specific effects of mechanical loading was evaluated on the circulatory response to exercise, initially with a progressive exercise test and ultimately with constant load exercises. The results indicate that mechanical loading *per se* powerfully influence the heart rate (HR) and cardiac output responses to exercise and provide essential data for the implementation of eccentric cycling exercise as a model of specific mechanical loading. Since HR is a usefull parameter to manage exercise intensities during the training sessions, these results should be considered as preliminary data required to examine the chronic effects of eccentric cycle training as a tool to increase mechanical loading and improve endurance performance in athletes.

SOMMAIRE

LISTE DES PUBLICATIONS FAISANT L'OBJET DE CETTE THÈSE	13
LISTE DES PUBLICATIONS NE FAISANT PAS L'OBJET DE CETTE THÈSE	14
PRINCIPALES ABRÉVIATIONS	15
LISTE DES FIGURES	18
PREAMBULE	19
ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES.....	21
CHAPITRE I : LES FACTEURS PHYSIOLOGIQUES DE LA PERFORMANCE AEROBIE CHEZ L'HOMME	22
I.1. METABOLISMES AEROBIES ET PERFORMANCE AEROBIE	23
I.1.1. Consommation d'O ₂ et exercice: notion de puissance métabolique	23
I.1.1.1. A l'exercice maximal : le concept de consommation maximale d'O ₂	23
I.1.1.2. A l'exercice sous maximal : notion de seuils métaboliques.....	25
I.1.2. Rationalisation des concepts : les puissances mécaniques associées	29
I.1.2.1. Définition de la puissance mécanique externe développée.....	29
I.1.2.2. Concept de puissance associée aux seuils métaboliques et à $\dot{V}O_{2\max}$	30
I.1.3. Les cinétiques d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ au début de l'exercice	31
I.1.3.1. Effet de l'intensité de l'exercice	32
I.1.3.2. Fraction de $\dot{V}O_{2\max}$, temps limite et performance aérobie.....	37
I.2. PLACE DE LA FORCE MUSCULAIRE DANS LA PERFORMANCE AEROBIE	38
I.2.1. Force musculaire et performance aérobie.....	39
I.2.2. Phénotype contractile et coût énergétique.....	40
I.2.2.1. Rendement, coût énergétique et économie de locomotion.....	41
I.2.2.2. Composantes métaboliques du coût énergétique.....	43
I.2.2.3. Composantes mécaniques du coût énergétique	43
I.2.2.4. Coût énergétique et performance aérobie	44
I.3. INTEGRATION DES FACTEURS DE LA PERFORMANCE AEROBIE	45
I.3.1. Le coût énergétique: un lien entre puissance métabolique et puissance mécanique.....	45
I.3.2. Notion de stimulus métabolique.....	46
I.3.3. Notion de stimulus mécanique	47
CHAPITRE II : AMELIORATION DE LA PERFORMANCE AEROBIE PAR L'ENTRAINEMENT : ROLE DES STIMULI METABOLIQUES ET MECANIQUES	50
II.1. LA CHARGE D'ENTRAINEMENT: UN DETERMINANT DES EFFETS DE L'ENTRAINEMENT	51
II.1.1. Intensité d'exercice et stimuli métaboliques.....	51
II.1.2. Intensité d'exercice et stimuli mécaniques	52
II.1.3. TRIMPs et charge d'entraînement.....	52
II.1.4. Stimuli métaboliques, stimuli mécaniques et limites des TRIMPs	54
II.2. L'ENTRAINEMENT EN ALTITUDE: VERS UN MODELE DE STIMULATION METABOLIQUE	54

II.2.1. Principe d'utilisation de l'altitude	55
II.2.2. Les modalités d'utilisation.....	56
<i>II.2.2.2. Expositions passives à l'altitude</i>	57
<i>II.2.2.4. Les expositions actives à l'altitude</i>	59
II.2.3. Vivre en bas – S'entraîner en haut ("Living-Low Training-High").....	60
<i>II.2.3.1. Effets sur les facteurs de la performance aérobie</i>	60
<i>II.2.3.2. Capacités de transport sanguin de l'O₂</i>	61
<i>II.2.3.3. Adaptations musculaires</i>	61
<i>II.2.3.4. Quelles voies de signalisation des stimuli métaboliques générés par LLTH ?</i>	62
<i>II.2.3.5. Une difficile gestion de la charge d'entraînement</i>	63
II.2.4. Vers l'entraînement en altitude intermittente	65
<i>II.2.4.1. Principe d'utilisation</i>	65
<i>II.2.4.2. Résultats observés et perspectives</i>	65
II.3. ENTRAÎNEMENT AEROBIE COUPLE AU TRAVAIL DE LA FORCE MUSCULAIRE: VERS UN MODELE DE STIMULATION MECANIQUE.....	66
II.3.1. Principe d'utilisation.....	68
II.3.3. Résultats observés.....	69
<i>II.3.3.1. Effets sur les facteurs physiologiques de la performance aérobie</i>	69
<i>II.3.3.2. Quels mécanismes sous-jacents?</i>	71
<i>II.3.3.3. Travail de force, stimuli métaboliques et stimuli mécaniques</i>	73
II.3.3. Les actions musculaires excentriques pour améliorer la performance aérobie	73
<i>II.3.3.1. La tolérance musculaire</i>	75
<i>II.3.3.2. Principe d'utilisation</i>	77
<i>II.3.3.3. Résultats observés</i>	78
<i>II.3.3.4. Le pédalage excentrique: quelle gestion de l'intensité d'exercice?</i>	80
CHAPITRE III : ADAPTATIONS CIRCULATOIRES A L'EXERCICE : ROLE DES STIMULI METABOLIQUES ET MECANIQUES.....	81
III.1. L'APPORT D'O ₂ SYSTEMIQUE ET MUSCULAIRE A L'EXERCICE: ROLE DES AJUSTEMENTS CIRCULATOIRES.....	82
III.1.1. Le contenu sanguin artériel en O ₂	82
III.1.2. Le débit cardiaque	83
III.1.3. Le débit sanguin musculaire	86
III.1.4. Apport d'O ₂ systémique et musculaire.....	87
III.2. REGULATION DES CIRCULATIONS SYSTEMIQUE ET MUSCULAIRE A L'EXERCICE	87
III.2.1. Quelles variables contrôlées?	88
III.2.2. Activité nerveuse sympathique et exercice.....	89
<i>III.2.2.1. La commande centrale de la circulation</i>	89
<i>III.2.2.2. Le baroréflexe artériel à l'exercice</i>	90
<i>III.2.2.3. Les réflexes périphériques et la circulation à l'exercice</i>	90
<i>III.2.2.4. Vasomotricité locale et exercice</i>	91
III.3. STIMULI METABOLIQUES, STIMULI MECANIQUES ET REPONSES CIRCULATOIRES A L'EXERCICE.....	92
III.3.1. Influence des stimuli métaboliques	92
<i>III.3.1.1. Métaboréflexes et ajustements circulatoires à l'exercice</i>	92
<i>III.3.1.2. Stimuli métaboliques et vasomotricité</i>	94
III.3.2. Influence des stimuli mécaniques.....	95

III.3.2.1. Mécanoréflexes et réponse circulatoire à l'exercice.....	96
III.3.2.2. Stimuli mécaniques et débit sanguin musculaire	96
OBJECTIFS SCIENTIFIQUES.....	99
MATERIELS ET METHODES.....	102
DEVELOPPEMENT OU IMPORTATION DE NOUVELLES TECHNIQUES AU SEIN DU	
LABORATOIRE.....	103
1. L'ERGOCYCLE EXCENTRIQUE.....	103
2. L'ELECTROMYOGRAPHIE DE SURFACE	105
3. LA MODELISATION DES CINETIQUES DE CONSOMMATION D'O ₂	105
1ERE ETUDE: ENTRAINEMENT EN ALTITUDE INTERMITTENTE CHEZ L'ATHLETE	106
I.1. POPULATION ET CRITERES D'INCLUSION	106
I.2. PROTOCOLE	107
I.2.1. Examen clinique.....	107
I.2.2. Sessions de tests et d'analyses d'avant et après entraînement.....	107
I.2.2.1. Les évaluations à l'effort	108
I.2.2.3. Etude de la fonction mitochondriale et quantification des ARN messagers	111
I.2.5. Protocole d'entraînement	113
2EME ETUDE : OPTIMISER LA GESTION DES INTENSITES D'EXERCICE EN ERGOCYCLE	
EXCENTRIQUE.....	115
II.1. POPULATION ET CRITERES D'INCLUSION	115
II.2. PROTOCOLE	115
II.2.1. Evaluation clinique	115
II.2.2. Protocole expérimental	115
II.2.2.1. Phase d'habituation.....	115
II.2.2.2. Sessions Expérimentales	116
II.2.3. Les paramètres analysés et les techniques utilisées	116
3EME ETUDE: CONTRIBUTIONS METABOLIQUES ET MECANIQUES AUX AJUSTEMENTS	
CIRCULATOIRES A L'EXERCICE	117
III.1. POPULATION ET CRITERES D'INCLUSION	117
III.2. PROTOCOLE.....	117
III.2.1. Evaluation clinique.....	117
III.2.2. Protocole expérimental.....	118
III.2.2.1. Phase d'habituation.....	118
III.2.2.1. Sessions expérimentales.....	118
III.2.3. Les paramètres analysés et les techniques utilisées	118
RESULTATS.....	120
1ERE ETUDE : ENTRAINEMENT EN ALTITUDE INTERMITTENTE CHEZ L'ATHLETE.....	121
I.1. EFFET SUR LA CAPACITE DE PERFORMANCE AEROBIE.....	121
I.1.1. Présentation	121

I.1.2. Résultats	122
<i>Exercise training in normobaric hypoxia in well-trained athletes: Improvements in sea-level endurance performance capacity. Accepté au Journal of Applied Physiology JAP-00742-2005.R1</i>	122
I.2. EFFETS SUR LA FONCTION MITOCHONDRIALE.....	124
I.2.1. Présentation	124
I.2.2. Résultats	125
<i>Exercise training in normobaric hypoxia in well-trained athletes: improvements of qualitative mitochondrial properties in skeletal muscle. En révision au Journal of Applied Physiology JAP-00359-2005</i>	125
I.3. EFFETS SUR LA TRANSCRIPTION AU NIVEAU MUSCULAIRE	127
I.3.1. Présentation	127
I.3.2. Résultats	128
<i>Exercise training in normobaric hypoxia in well-trained athletes: muscular adjustment of selected gene transcripts. Accepté au Journal of Applied Physiology JAP-00359-2005.R1</i>	128
I.4. ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES ET AMELIORATION DE LA PERFORMANCE AEROBIE: QUELS EFFETS DE L'ALTITUDE INTERMITTENTE CHEZ L'ATHLETE?.....	130
<i>Intermittent hypoxia as a metabolic stressor: evidence for peripheral mediated improvements in endurance performance capacity. Accepté au Journal of Applied Physiology JAP-01159-2005</i>	130
CHAPITRE II : OPTIMISER LA GESTION DES INTENSITES D'EXERCICE EN ERGOCYCLE EXCENTRIQUE.....	131
II.1. Présentation.....	131
II.2. Résultats.....	132
<i>Eccentric cycle exercise: training application of specific circulatory adjustments. Medicine and Science in Sports and Exercise, 36(4) p1900-1906, 2004</i>	132
CHAPITRE III : CONTRIBUTION METABOLIQUE ET MECANIQUE AUX AJUSTEMENTS CIRCULATOIRES A L'EXERCICE	134
III.1. Présentation	134
III.2. Résultats	135
<i>Metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycling</i>	135
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	138
CHAPITRE I : DISCUSSION GENERALE	139
I.1. L'ENTRAINEMENT EN ALTITUDE INTERMITTENTE COMME MODELE DE STIMULATION METABOLIQUE	141
I.1.1. Originalité de l'entraînement en altitude intermittente	141
I.1.2. Entraînement en altitude intermittente et performance aérobie.....	142
I.1.3.. Approche intégrée de l'amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$	144
I.1.4. Approche intégrée de l'allongement du Tlim	146
I.2. L'ERGOCYCLE EXCENTRIQUE COMME MODELE DE STIMULATION MECANIQUE	149
CHAPITRE II : PERSPECTIVES DE TRAVAIL	153
II.1. ENTRAINEMENT EN ALTITUDE INTERMITTENTE ET PERFORMANCE AEROBIE	153
II.1.1. Effet sur la performance aérobie et optimisation des protocoles	153

II.1.2. Des adaptations musculaires périphériques à préciser	154
II.2. L'EXERCICE DE PEDALAGE EXCENTRIQUE : UN VASTE CHAMP EXPERIMENTAL.....	155
II.2.2. Ergocycle excentrique et performance aérobie	155
II.2.1. Ergocycle excentrique comme modèle expérimental.....	156
CONCLUSION GENERALE	158
BIBLIOGRAPHIE.....	159

LISTE DES PUBLICATIONS FAISANT L'OBJET DE CETTE THESE

Relatives aux stimuli métaboliques via l'entraînement en altitude intermittente:

Dufour S.P., Ponsot E., Zoll J., Doutreleau J., Lonsdorfer-Wolf E., Geny B., Lampert E., Hoppeler H., Billat V., Mettauer B., Richard R., Lonsdorfer J. *Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners: improvements in sea level endurance performance capacity.*
Sous presse au Journal of Applied Physiology, JAP-00742-2005.R1

Ponsot E., **Dufour S.P.**, Zoll J., Doutreleau S., N'Guessan B., Geny B., Hoppeler H., Lampert E., Mettauer B., Ventura-Clapier R., Richard R. *Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners: improvements of qualitative mitochondrial properties in skeletal muscle.*
En révision au Journal of Applied Physiology, JAP-00361-2005

Zoll J., Ponsot E., **Dufour S.P.**, Doutreleau S., Ventura-Clapier R., Hoppeler H., Richard R., Flück M. *Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners: muscular adjustments of selected gene transcripts.*
Sous presse au Journal of Applied Physiology, JAP-00359-2005.R2

Dufour S.P., Ponsot E., Zoll J., Richard R. *Intermittent hypoxia as a metabolic stressor: evidences for peripheral-mediated improvements in endurance performance capacity.*
Sous presse au Journal of Applied Physiology, JAP-01159-2005

Relatives aux stimuli mécaniques via l'exercice sur ergocycle excentrique:

Dufour S.P., Lampert E., Doutreleau S., Lonsdorfer-Wolf E., Billat V.L., Piquard F., Richard R. *Eccentric cycle exercise: training application of specific circulatory adjustments.* *Medicine and Sciences in Sports and Exercise* 36(11): 1900-1906, 2004

Dufour S.P., Doutreleau S., Lonsdorfer-Wolf E., Lampert E., Hirth C., Bayer S., Piquard F., Geny B., Lonsdorfer J., Mettauer B., Richard R. *Deciphering the metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycle exercise.*
Soumis à l'American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology

LISTE DES PUBLICATIONS NE FAISANT PAS L'OBJET DE CETTE THESE

Garcin M., Mille-Hamard L., Devillers S., Delattre E., **Dufour S.P.**, Billat V. *Influence of the type of training sport practised on psychological and physiological parameters during exhausting endurance exercises.*

Perceptual and Motor Skills 97(3 Pt 2):1150-62, 2003.

Richard R, Lonsdorfer-Wolf E, **Dufour S.P.**, Doutreleau S, Oswald-Mammosser M, Billat VL, Lonsdorfer J. *Cardiac output and oxygen release during very high-intensity exercise performed until exhaustion.*

European Journal Applied Physiology 93(1-2): 9-18, 2004.

PRINCIPALES ABREVIATIONS

1 RM: charge qu'un sujet n'est capable de soulever qu'une seule fois lors d'une contraction musculaire volontaire maximale

A₁, A₂, A₃: amplitudes des phases respectivement cardiodynamique, fondamentale et lente de la cinétique de consommation d'oxygène au début d'un exercice

ADP: adénosine di-phosphates

ARNm: acide ribonucléique messenger

ATP: adénosine tri-phosphates

C.C.P.P.R.B: comité consultatif pour la protection des personnes dans la recherche biomédicale

Ca²⁺: ions calcium

CA3: carbonic anhydrase 3

CaO₂: contenu sanguin artériel en O₂

CE: coût énergétique

CO₂: dioxyde de carbone

CON: concentrique

Cr: créatine

CS: citrate synthase

Da-vO₂: différence artério-veineuse en oxygène

EAI: entraînement en altitude intermittente

EMG: électromyographie

EXC: excentrique

FC: fréquence cardiaque

FeO₂: fraction d'oxygène dans l'air expiré

FiO₂: fraction d'oxygène dans l'air inspiré

Glut4: glucose transporter 4

H⁺: ions hydrogène

[Hb]: concentration sanguine en hémoglobine

HCO₃⁻: ions bicarbonate

HIF1: hypoxia inductible factor 1

HYP: groupe d'athlètes qui s'est entraîné en hypoxie intermittente

K_m: constante de Michaelis-Menten de la modélisation de la respiration mitochondriale en fonction de la concentration en ADP

K_{m+Cr}: constante de Michaelis-Menten établie en présence de créatine

K_{m-Cr}: constante de Michaelis-Menten établie en l'absence de créatine

[La]: lactatémie

LHTL: "Living High – Training low" ou modalité d'utilisation de l'altitude qui propose de vivre en haute altitude et de s'entraîner en basse altitude

LLTH: "Living Low – Training High" ou modalité d'utilisation de l'altitude qui propose de vivre en basse altitude et de s'entraîner en haute altitude

MCT1: monocarboxylate transporter 1

NOR: groupe d'athlètes contrôle qui s'est entraîné en normoxie

O₂: oxygène

p \dot{V} O_{2 max}: puissance mécanique externe minimale associée à \dot{V} O_{2 max}

PAM: pression artérielle moyenne

PaO₂: pression partielle en oxygène dans le sang artériel

PCr: phosphocréatine

PFK: phosphofructokinase

PGC1 α : peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1

P_{max}: puissance mécanique externe maximale développée lors d'un test d'effort maximal progressif

PO₂: pression partielle en oxygène

pSV₁: puissance mécanique externe associée au premier seuil ventilatoire

pSV₂: puissance mécanique externe associée au second seuil ventilatoire

\dot{Q} : débit cardiaque

RVP: résistances vasculaires périphériques

SaO₂: saturation sanguine en oxygène

SV₁: seuil ventilatoire 1

SV₂: seuil ventilatoire 2

τ_1 , τ_2 , τ_3 : constantes de temps des phases respectivement cardiodynamique, fondamentale et lente de la cinétique de consommation d'oxygène au début d'un exercice

td₁, td₂, td₃: délais d'apparition des phases respectivement cardiodynamique, fondamentale et lente de la cinétique de consommation d'oxygène au début d'un exercice

Tlim: temps d'épuisement lors d'un effort à vitesse ou puissance mécanique externe constante

TRIMP: "training impulse" ou stimuli globaux générés par l'entraînement

UEC: unité énergétique cellulaire

\dot{V}_E : ventilation

VEGF: vascular endothelial growth factor

VES: volume d'éjection systolique

\dot{V} O₂: débit de consommation d'oxygène

$\dot{V}CO_2$: débit de rejet de dioxyde de carbone

\dot{V}_{max} : respiration mitochondriale maximale mesurée sur fibres perméabilisées *in situ*

vSV_1 : vitesse de course associée au premier seuil ventilatoire

vSV_2 : vitesse de course associée au second seuil ventilatoire

$v\dot{V}O_{2max}$: vitesse de course minimale associée à la consommation maximale d'oxygène

LISTE DES FIGURES

- Page 28** **Figure 1:** Seuils ventilatoires 1 et 2
- Page 34** **Figure 2:** Modélisation de la cinétique de $\dot{V}O_2$ au début d'exercices d'intensité modérée
- Page 36** **Figure 3:** Modélisation de la cinétique de $\dot{V}O_2$ au début d'exercices intenses
- Page 38** **Figure 4:** Relation temps limite/puissance mécanique externe
- Page 75** **Figure 5:** Il était une fois, l'ergocycle excentrique...
- Page 85** **Figure 6:** Ajustements circulatoires centraux en fonction de l'intensité d'exercice
- Page 98** **Figure 7:** Principe de fonctionnement de l'effet "pompe" musculaire périphérique
- Page 104** **Figure 8:** Prototype d'ergocycle excentrique développé au laboratoire
- Page 109** **Figure 9:** Dispositif expérimental permettant de créer une hypoxie normobare
- Page 112** **Figure 10:** Protocole d'étude du contrôle de la respiration mitochondriale par l'ADP
- Page 123** **Figure 11:** Principaux effets de l'entraînement en altitude intermittente sur la capacité de performance aérobie des athlètes
- Page 126** **Figure 12:** Principaux effets de l'entraînement en altitude intermittente sur la fonction mitochondriale du muscle squelettique
- Page 129** **Figure 13:** Principaux effets de l'entraînement en altitude intermittente sur l'activité transcriptionnelle musculaire
- Page 133** **Figure 14:** Principales réponses circulatoires au pédalage excentrique vs. concentrique à même consommation d'oxygène
- Page 136** **Figure 15:** Estimation de la contribution relative des stimuli métaboliques et des stimuli mécaniques à la réponse circulatoire observée lors d'exercices de pédalage concentrique intenses.

PREAMBULE

La réalisation d'une performance sportive constitue un évènement d'une fascinante complexité. Ses fondements physiologiques occupent la communauté scientifique depuis plus d'un siècle, et les disciplines sportives d'endurance n'échappent pas à cette curiosité. Une des thématiques scientifiques récurrentes consiste, à déterminer les méthodes optimales pour améliorer la performance des athlètes, ainsi qu'à en comprendre les mécanismes sous-jacents. Pour l'heure, les caractéristiques de durée, d'intensité et de fréquence des exercices réalisés à l'entraînement, sont considérées comme les éléments les plus déterminants de la charge d'entraînement imposée à l'athlète, ainsi que des effets observés sur la performance. Alors que la charge d'entraînement réalisée par l'athlète apparaît comme un facteur fondamental des effets de l'entraînement, ses composantes métaboliques et mécaniques sont plus particulièrement considérées comme les principaux stimuli perçus par les muscles squelettiques et l'organisme, afin de mettre en place les réponses adaptatives appropriées. Dans ce contexte, des méthodes d'entraînement particulières se sont développées, visant à augmenter les stimuli respectivement métaboliques et mécaniques générés par l'entraînement. Ainsi, l'entraînement en altitude, en ajoutant un stress hypoxique aux perturbations métaboliques déjà causées par l'exercice, permet d'augmenter les stimuli métaboliques imposés à l'athlète dans le but de majorer les adaptations induites et d'améliorer la performance aérobie. Toutefois, l'utilité de ce type d'approche chez les athlètes comme moyen d'améliorer la performance au niveau de la mer est très controversée, et ses effets potentiellement bénéfiques sont loin d'être établis. D'autre part, l'inclusion d'exercices générant des tensions musculaires importantes à l'intérieur des programmes d'entraînement habituels des athlètes, est une stratégie permettant d'augmenter les stimuli mécaniques. Là aussi, les conditions optimales de la mise en œuvre de ce type d'approche restent largement à déterminer.

Le présent travail de thèse s'inscrit dans une logique d'optimisation de ces 2 méthodes, visant à manipuler les stimuli métaboliques et les stimuli mécaniques de la charge d'entraînement imposée aux athlètes, dans le but d'améliorer la performance aérobie. Une partie de ce travail est consacrée à l'entraînement en altitude intermittente, comme modèle de stimulation métabolique. Une étude longitudinale a été menée chez des athlètes, proposant une approche intégrée des effets de l'entraînement en altitude intermittente sur la capacité de performance aérobie, la fonction mitochondriale et l'activité transcriptionnelle musculaire squelettique. Une seconde partie de ce travail envisage le pédalage excentrique comme un modèle de stimulation mécanique. Toutefois, avant de s'intéresser aux effets à long terme des stimuli mécaniques

obtenus avec ce type d'exercice, deux études transversales ont été réalisées, visant à caractériser les effets aigus des stimuli mécaniques, notamment sur les ajustements circulatoires. Ces 2 travaux constituent une étape préliminaire à la mise en œuvre de l'ergocycle excentrique comme modèle de stimulation mécanique, et procurent des informations essentielles, notamment en terme de gestion des intensités d'exercice.

Afin d'introduire ces 3 études, le contexte théorique propose de consacrer un premier chapitre aux principaux facteurs déterminants de la performance aérobie. Un second chapitre présente l'entraînement en altitude et l'entraînement de la force musculaire, comme deux procédures mettant l'accent sur les stimuli métaboliques ou mécaniques, et en décrit les effets connus sur les facteurs de la performance aérobie et la performance elle-même. Un troisième et dernier chapitre présente les fondements théoriques de la sensibilité des ajustements circulatoires aux stimuli respectivement métaboliques et mécaniques.

ÉTAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

CHAPITRE I : LES FACTEURS PHYSIOLOGIQUES DE LA PERFORMANCE AEROBIE CHEZ L'HOMME

La performance dans les épreuves d'endurance implique de produire et d'utiliser l'énergie de manière optimale sur une distance ou une durée généralement bien définie (ex : le marathon, 42,195 km, ou le record de l'heure cycliste). L'activité contractile nécessite alors un approvisionnement continu et suffisant en énergie. Les épreuves sportives inférieures à 75 sec requièrent une contribution importante des métabolismes anaérobies à la fourniture énergétique (Gastin, 2001). A l'opposé, la performance lors des épreuves sportives très longues dépend pour une part non négligeable de facteurs psychologiques, nutritionnels, musculo-squelettiques voire thermorégulateurs, minimisant les aspects énergétiques *per se* (Jones & Carter, 2000). Par conséquent, dans le contexte de notre travail, on parlera de performance aérobie pour décrire la performance dans les épreuves sportives dont la durée est comprise entre environ 75 sec et 240 min.

Pour de telles durées et intensités d'effort, les métabolismes aérobie représentent les principaux systèmes de fourniture énergétique, via la production essentielle d'adénosine triphosphates ou ATP. Dès lors, la capacité de performance aérobie d'un athlète peut être considérée comme largement déterminée par 3 caractéristiques importantes des métabolismes aérobie, telles que proposées par Whipp et al. (Whipp, 1987):

- les valeurs sous-maximales de consommation d'oxygène ($\dot{V}O_2$) correspondant aux seuils métaboliques
- la vitesse maximale d'utilisation de l' O_2 ou $\dot{V}O_{2\max}$
- la rapidité d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ à la demande en ATP au début de l'exercice

A côté de ces considérations purement métaboliques, relatives au débit de production d'énergie cellulaire, la performance aérobie est également dépendante de la capacité de production de force musculaire, et plus particulièrement de la force musculaire qu'un athlète peut développer en un temps donné (puissance mécanique musculaire). Celle-ci résulte de la masse musculaire mobilisable et de la capacité à utiliser l'énergie produite de manière plus ou moins efficace. Ainsi, des facteurs non seulement métaboliques mais également mécaniques, interagissent pour produire le mouvement et déterminer la performance aérobie chez l'homme. Puisque l'objectif de tout programme d'entraînement est de faire progresser ces paramètres pour obtenir une amélioration de la performance, nous allons nous attacher à préciser leur définition.

I.1. Métabolismes aérobie et performance aérobie

La production aérobie d'énergie implique nécessairement la consommation d'O₂ par l'organisme, et plus particulièrement par les territoires les plus actifs (muscles sollicités et coeur). Ainsi, la capacité de performance aérobie peut être appréhendée à partir des valeurs de $\dot{V}O_2$ atteintes à l'exercice (sous maximal et maximal) et de la rapidité avec laquelle celles-ci peuvent être atteintes.

I.1.1. Consommation d'O₂ et exercice: notion de puissance métabolique

En termes physiques appliqués aux métabolismes aérobie, le débit de consommation d'O₂, et donc de production d'ATP, est équivalent à la notion de puissance métabolique (rapport énergie produite/temps). La $\dot{V}O_2$ augmente avec l'intensité de l'exercice afin de fournir l'ATP, et donc l'énergie nécessaire aux tissus demandeurs. Souvent décrite comme linéaire, cette relation n'est en réalité linéaire que jusqu'à environ 80% de $\dot{V}O_{2\max}$ lors d'un exercice sur ergocycle (Mortensen *et al.*, 2005). Derrière cette apparente linéarité, le fonctionnement des métabolismes aérobie fait intervenir des événements cellulaires très différents et peut être en partie caractérisé par les notions de $\dot{V}O_{2\max}$ et seuils métaboliques. Celles-ci renseignent alors sur les niveaux de puissance métabolique qu'ils permettent d'assurer et donc sur leur efficacité.

I.1.1.1. A l'exercice maximal : le concept de consommation maximale d'O₂

I.1.1.1.1. Définition

Depuis les travaux de H.V. Hill dans les années 1920 (Hill & Lupton, 1923; Bassett, 2002), il est admis qu'il existe une limite supérieure à l'utilisation de l'oxygène à l'exercice chez l'homme, dénommée consommation maximale d'oxygène ou $\dot{V}O_{2\max}$. Ainsi, lors d'une épreuve d'effort progressive, $\dot{V}O_{2\max}$ est obtenue lorsque le sujet atteint l'épuisement ou lorsque l'augmentation de l'intensité d'exercice ne s'accompagne plus d'une augmentation constante de $\dot{V}O_2$ (Howley *et al.*, 1995). Dans ce dernier cas, on observe alors un plateau de $\dot{V}O_2$, identifié lorsque l'augmentation de $\dot{V}O_2$ est inférieure à 60% de son augmentation théorique (Howley *et al.*, 1995). Le plafonnement de $\dot{V}O_2$ indique alors que le sujet a atteint ses capacités maximales d'utilisation de l'O₂ et représente un des plus évidents critères d'atteinte de $\dot{V}O_{2\max}$. D'autres

indices, tels qu'un quotient respiratoire (rapport rejet de CO_2 / consommation d' O_2 ou $\dot{V}\text{CO}_2/\dot{V}\text{O}_2$) supérieur à 1,1, une fréquence cardiaque supérieure à 90% de la fréquence cardiaque maximale théorique ($220 - \text{âge}$ du sujet) et une lactatémie supérieure à $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ sont également considérés comme des observations nécessaires pour déterminer si $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ a été atteinte (Bassett & Howley, 2000). Elles permettent souvent de définir $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ même en l'absence du plateau de $\dot{V}\text{O}_2$, phénomène souvent observé chez les athlètes en endurance (Doherty *et al.*, 2003). On parle alors de $\dot{V}\text{O}_2$ pic, mais pour simplifier notre propos nous garderons la terminologie de $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ pour décrire la limite supérieure de $\dot{V}\text{O}_2$ qui caractérise un athlète, indépendamment de sa méthode de détermination. La valeur mesurée de $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ est exercice-spécifique et augmente en fonction de la masse musculaire mise en jeu lors de sa mesure (Taylor *et al.*, 1955; Mitchell *et al.*, 1958). Ainsi, $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ est plus élevée lorsqu'elle est mesurée en course à pied que sur un ergocycle (Hermansen & Saltin, 1969), ce qui rend difficiles les comparaisons de $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ obtenues à l'aide d'exercices différents. Toutefois, dans la mesure où les conditions de mesures sont standardisées, $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ renseigne sur l'aptitude des systèmes ventilatoire, cardiovasculaire et musculaire à prélever l' O_2 de l'air ambiant, à l'acheminer aux muscles actifs et à l'utiliser pour resynthétiser l'ATP nécessaire à l'exercice. De ce fait, $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ est considérée comme un bon témoin de l'efficacité maximale de la fonction cardiorespiratoire chez le sujet sain. A une telle intensité d'exercice, il a été estimé que la quasi totalité de la population de fibres musculaires du ou des groupe(s) musculaire(s) sollicité(s) était activée (Vollestad *et al.*, 1984; Vollestad & Blom, 1985; Green & Patla, 1992). Les valeurs de $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ régulièrement rapportées dans la littérature pour des sportifs de haut niveau sont de l'ordre de $5-5,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ chez des cyclistes professionnels testés sur ergocycle (Lucia *et al.*, 2001a), $\sim 4,8 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ chez des marathoniens de niveau mondial testés en courant sur le terrain (Billat *et al.*, 2001a) ou encore $5,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ chez des skieurs de fond de l'élite suédoise testés sur un ergomètre spécifique reproduisant le geste du «pas du patineur» (Calbet *et al.*, 2004). Dans le domaine sportif, $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ possède une valeur prédictive de la capacité de performance aérobie, tel que suggéré par les travaux de Davies et Thompson (Davies & Thompson, 1979) montrant que le temps sur marathon diminue à mesure que $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ augmente. Cette observation traduit le fait que les athlètes d'endurance possèdent la faculté d'atteindre de hautes puissances métaboliques via la mise en jeu des métabolismes aérobie.

I.1.1.1.2. Mitochondries, $\dot{V}O_{2\max}$ et performance aérobie

Aujourd'hui, il est bien accepté que l'apport d'O₂ aux mitochondries représente un déterminant essentiel de $\dot{V}O_{2\max}$ lors d'exercices sollicitant de larges masses musculaires (Honig *et al.*, 1992; Saltin & Strange, 1992; Wagner, 1992; Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Mortensen *et al.*, 2005). Néanmoins, l'étape ultime de l'utilisation de l'O₂ est assurée par les capacités oxydatives maximales du tissu musculaire. Leur rôle exact chez l'athlète reste inconnu, mais chez le sujet sédentaire ($\dot{V}O_{2\max} = 28 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) à actif ($\dot{V}O_{2\max} = 50 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), une relation positive a été démontrée entre la vitesse maximale de respiration des fibres musculaires *in situ* (\dot{V}_{\max}) et $\dot{V}O_{2\max}$, \dot{V}_{\max} expliquant environ 40% de la variance de $\dot{V}O_{2\max}$ (Zoll *et al.*, 2002). L'importance de la fonction mitochondriale dans la capacité de performance aérobie est également suggérée par l'augmentation forte des enzymes mitochondriales après entraînement (200%), alors que $\dot{V}O_{2\max}$ augmente plus modestement (10-20%) (Saltin *et al.*, 1977). Cette dernière observation démontre qu'en parallèle de $\dot{V}O_{2\max}$ d'autres facteurs, plus "qualitatifs", sont impliqués dans la tolérance aux efforts prolongés d'intensité élevée. Ainsi, le profil oxydatif musculaire est également déterminé par la sensibilité mitochondriale à l'ADP (N'Guessan *et al.*, 2004). Lorsqu'elle est mesurée sur fibres musculaires *in situ*, où les mitochondries sont maintenues dans leur environnement architectural cellulaire, la sensibilité de la respiration mitochondriale à la concentration cytoplasmique d'ADP diminue à mesure que \dot{V}_{\max} et $\dot{V}O_{2\max}$ augmentent, au moins jusqu'à $50 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (Zoll *et al.*, 2002; Zoll *et al.*, 2003). Les aspects qualitatifs de la fonction mitochondriale chez l'athlète et leur rôle dans l'amélioration de la performance aérobie restent encore inconnus.

Dans ce contexte, les capacités oxydatives maximales mesurées au niveau systémique ($\dot{V}O_{2\max}$) ou musculaires (\dot{V}_{\max}) ne sont actuellement considérées que comme des pré requis indispensables pour envisager la victoire dans les épreuves d'endurance à haut niveau. D'un point de vue pratique, $\dot{V}O_{2\max}$ seule ne suffit pas à expliquer les variations de performance au sein d'un groupe d'athlètes homogène en $\dot{V}O_{2\max}$.

1.1.1.2. A l'exercice sous maximal : notion de seuils métaboliques

En dessous de $\dot{V}O_{2\max}$, l'augmentation de la $\dot{V}O_2$ avec l'intensité de l'exercice s'accompagne d'événements cellulaires différents suivant l'intensité de l'exercice. En effet, l'augmentation de l'intensité d'exercice nécessite la contribution grandissante des métabolismes

anaérobies à la fourniture énergétique. Celle-ci s'accompagne de la production d'acide lactique, témoin de la contribution de la glycolyse anaérobie à la fourniture énergétique. Alors que pour les intensités d'exercice faibles à modérées, la puissance métabolique nécessaire est très majoritairement assurée par les métabolismes aérobie, les intensités d'exercice plus élevées voient la lactatémie augmenter de manière exponentielle. Puisque les lactates diffusent rapidement du compartiment cellulaire au compartiment sanguin (Knuttgén & Saltin, 1972), cette observation est le témoin de la perturbation progressive de l'homéostasie cellulaire, caractérisée par une diminution du pH tant cellulaire que sanguin. A partir des modifications de la lactatémie, 2 intensités sous maximales « remarquables » ont été définies, chacune faisant référence à la notion de seuil métabolique (Wasserman *et al.*, 1999).

Un premier seuil métabolique apparaît pour des intensités d'exercice localisées aux alentours de 50-60% $\dot{V}O_{2\max}$ chez le sujet sain. A l'instar de Wasserman *et al.* (Wasserman *et al.*, 1973) qui désignent cette puissance métabolique par la terminologie de seuil « anaérobie », ou de Kinderman *et al.* (Kindermann *et al.*, 1979) qui utilisent le terme de seuil « aérobie », de nombreuses appellations différentes ont été utilisées, suivant les méthodes employées, pour définir cette zone d'intensité. Afin de s'affranchir du caractère invasif des prélèvements sanguins nécessaires à la détermination de la lactatémie, ce premier seuil métabolique a également été défini à partir des échanges gazeux mesurés à la bouche. Alors que la $\dot{V}O_2$, la ventilation (\dot{V}_E) et la $\dot{V}CO_2$ augmentent linéairement pour les faibles intensités d'exercice, le franchissement du premier seuil métabolique marque une accélération du rejet de CO_2 . La $\dot{V}CO_2$ augmente alors plus rapidement que la $\dot{V}O_2$, parce que la génération de CO_2 liée au tamponnage des ions H^+ par les ions HCO_3^- vient s'ajouter à la production métabolique de CO_2 . Ces adaptations ventilatoires conduisent le rapport $\dot{V}_E/\dot{V}CO_2$ à rester constant, alors que le rapport $\dot{V}_E/\dot{V}O_2$ augmente (Wasserman *et al.*, 1999). On parle alors de seuil ventilatoire ou de premier seuil ventilatoire (SV_1) (Meyer *et al.*, 2005). Bien que largement sous maximal, ce premier seuil ventilatoire, exprimé en valeur absolue de $\dot{V}O_2$ ou en % de $\dot{V}O_{2\max}$, est un bon indicateur de la capacité de performance dans les disciplines sportives d'endurance, plus élevé chez le sportif (70-75% $\dot{V}O_{2\max}$) que chez le sédentaire (~55% $\dot{V}O_{2\max}$) (Meyer *et al.*, 2005).

Un deuxième seuil métabolique apparaît pour des intensités d'exercice plus proches de $\dot{V}O_{2\max}$. Au niveau cellulaire, celui-ci est associé à une production plus importante d'ions H^+ , lesquels continuent d'être tamponnés par les ions HCO_3^- . Cependant, les concentrations cellulaires et sanguine en ions HCO_3^- diminuent progressivement au point que les ions H^+ s'accumulent dans le cytoplasme des cellules musculaires puis diffusent vers le compartiment sanguin. En conséquence, les milieux intracellulaire et sanguin s'acidifient progressivement. Au

niveau des échanges gazeux mesurés à la bouche, on observe que la \dot{V}_E augmente en excès et non plus de manière proportionnelle à la \dot{V}_{CO_2} . Bien que l'hyperventilation observée soit le résultat de nombreux stimuli différents, la baisse du pH sanguin couplée à la poursuite de l'augmentation linéaire de la \dot{V}_{CO_2} , est considérée comme un de ses mécanismes essentiels (Meyer *et al.*, 2004). A ce niveau de puissance métabolique, le rapport \dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} augmente de manière remarquable. Associé à l'hyperventilation et à la poursuite de l'augmentation du rapport \dot{V}_E/\dot{V}_{O_2} , cet indice contribue à définir le seuil de compensation respiratoire ou encore second seuil ventilatoire (SV_2). Là aussi, lorsqu'il est exprimé en valeur absolue de \dot{V}_{O_2} ou en % de $\dot{V}_{O_{2\max}}$, ce second seuil métabolique est considéré comme un bon témoin de la capacité de performance aérobie (Iwaoka *et al.*, 1988; Laursen *et al.*, 2003b), se rapprochant de $\dot{V}_{O_{2\max}}$ chez les athlètes de très haut niveau ($\sim 90\% \dot{V}_{O_{2\max}}$) (Meyer *et al.*, 2005).

Collectivement, ces deux seuils métaboliques (cf Fig 1) que l'on nommera SV_1 et SV_2 pour la suite de notre travail, donnent des indications sur les puissances métaboliques que les athlètes peuvent soutenir avant de présenter les symptômes témoignant de la mise en jeu grandissante des métabolismes anaérobies. Concrètement, plus SV_1 et SV_2 sont proches de $\dot{V}_{O_{2\max}}$, plus les athlètes seront à même de soutenir de manière prolongée des puissances métaboliques proches de $\dot{V}_{O_{2\max}}$ (Billat & Koralsztejn, 1996). A ce titre, ils constituent donc des facteurs importants de la capacité de performance aérobie.

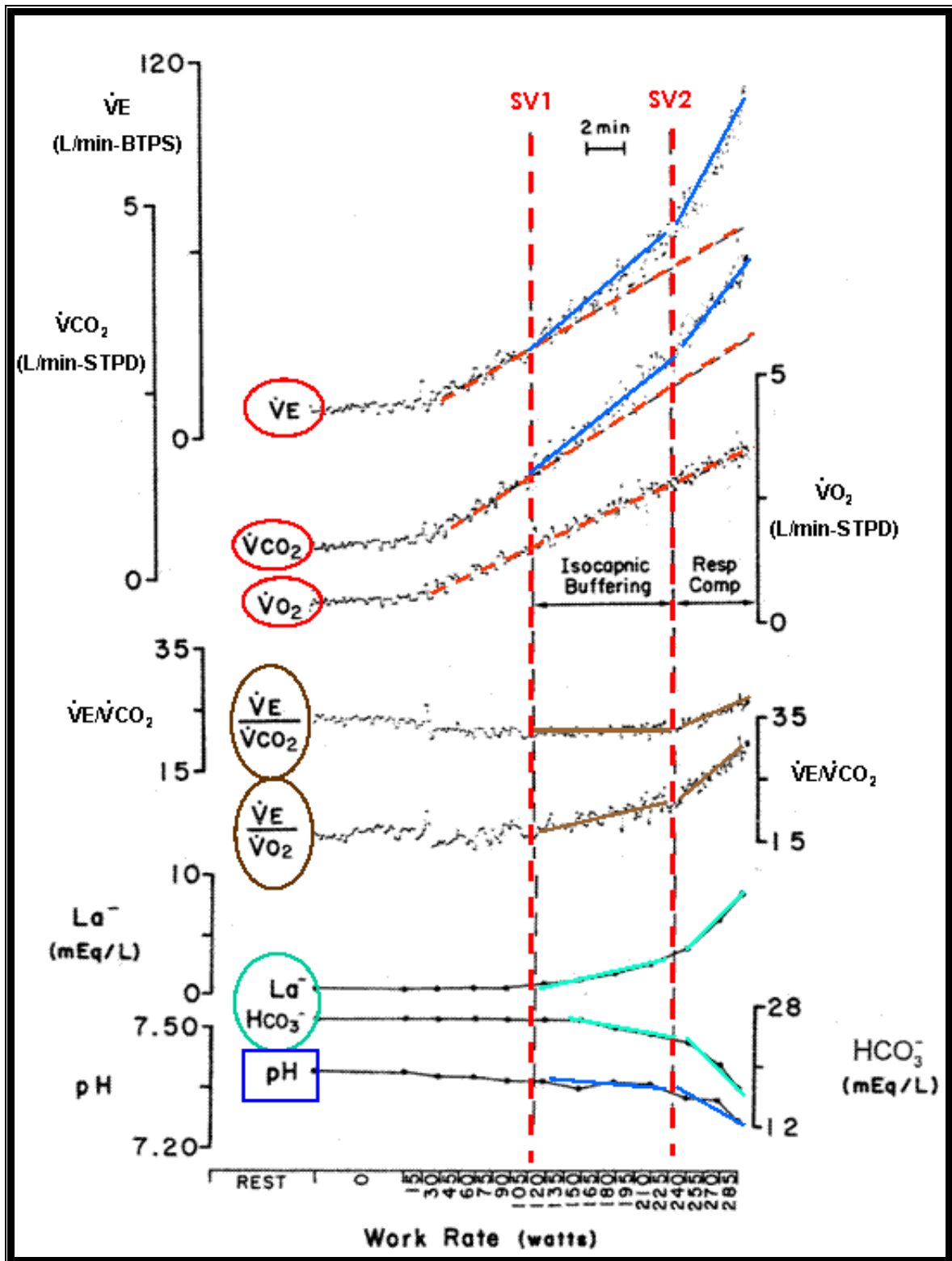


Figure 1: Seuils ventilatoires 1 et 2. Evolution des paramètres utilisés pour localiser l'apparition des seuils lors d'un test d'effort progressif maximal. Adapté de Wasserman et al. (Wasserman *et al.*, 1999)

I.1.2. Rationalisation des concepts : les puissances mécaniques associées

Alors que la notion de puissance métabolique est relativement abstraite, correspondant à un débit de production d'énergie, il est possible de rationaliser ce concept en utilisant un témoin pratique de l'intensité d'exercice pour laquelle elle apparaît : la puissance mécanique développée. En effet, au cours des tests d'effort classiques sur ergocycle, l'intensité d'exercice augmente progressivement jusqu'à l'épuisement du sujet, via l'élévation de la puissance mécanique de pédalage qui lui est imposée. Même si quelques aménagements sont parfois indispensables en fonction du type d'exercice utilisé pour tester les athlètes, le principe reste le même. Ainsi, en course à pied c'est la vitesse de course et non pas la puissance mécanique développée qui est manipulée pour amener progressivement le sujet à l'épuisement.

I.1.2.1. Définition de la puissance mécanique externe développée

Le terme de puissance mécanique développée fait référence à une quantité de travail (joules, J) réalisée par unité de temps (secondes, sec) et s'exprime en watts (W, J/sec) suivant l'équation ci-dessous :

$$\text{Puissance mécanique (W)} = \frac{\text{Travail (J)}}{\text{Temps (sec)}}$$

Quel que soit le moyen de locomotion, le travail réalisé (produit d'une force par une distance d'application) peut être quantifié, même si sa mesure est plus aisée sur ergocycle qu'en course à pied (nécessite un appareillage spécifique type tapis roulant avec capteurs de forces) (Avogadro *et al.*, 2003; Borrani *et al.*, 2003). Cette notion de puissance mécanique développée est en réalité une puissance mécanique externe, c'est à dire réellement développée sur l'ergomètre (ergocycle) ou l'environnement (sol). Elle ne prend pas en compte la puissance mécanique interne, nécessaire pour vaincre les forces internes (frottements intramusculaires, intraarticulaires, etc..), lutter contre la gravité et ainsi mettre les membres en mouvement (Winter, 1979). Toutefois, cette dernière varie essentiellement avec la vitesse du mouvement et non pas avec la force développée. En conséquence, elle est indépendante de la puissance mécanique externe lorsque la fréquence du mouvement est fixe (fréquence de pédalage sur ergocycle ou fréquence de pas en course à pied) (Wells *et al.*, 1986; Minetti *et al.*, 1994).

I.1.2.2. Concept de puissance associée aux seuils métaboliques et à $\dot{V}O_{2\max}$

A l'exercice, l'organisme transforme l'énergie chimique (ATP) fournie par les métabolismes mis en jeu, en énergie mécanique utilisée pour mettre en mouvement les membres et assurer la locomotion. Ainsi, lors d'un test d'effort maximal progressif, à chaque niveau de puissance mécanique externe imposé au sujet, ses métabolismes s'adaptent à la demande énergétique pour fournir la puissance métabolique requise. L'épuisement intervient alors lorsque les métabolismes énergétiques ne parviennent plus à fournir l'énergie nécessaire pour développer la puissance mécanique externe demandée. Durant ce type de test, il est possible de déterminer les valeurs de puissance mécanique externe qui correspondent à des valeurs cibles de puissance métabolique, telles que SV_1 , SV_2 et $\dot{V}O_{2\max}$.

A cause de la possible apparition d'un plateau de $\dot{V}O_2$ à la fin d'une épreuve d'effort maximale progressive, l'identification de la puissance mécanique externe correspondant à $\dot{V}O_{2\max}$ peut être imprécise. Pour essayer de s'affranchir de ce problème, Billat et al. proposent d'utiliser le concept de puissance mécanique externe minimale associée à $\dot{V}O_{2\max}$ ($p\dot{V}O_{2\max}$) (Billat *et al.*, 1996a; Faina *et al.*, 1997). Ainsi, lorsque la $\dot{V}O_2$ ne plafonne pas à la fin du test, $p\dot{V}O_{2\max}$ correspond au dernier palier de puissance mécanique externe développée, engendrant $\dot{V}O_{2\max}$. Par contre, lorsqu'un plateau de $\dot{V}O_2$ apparaît, alors $p\dot{V}O_{2\max}$ correspond à la puissance mécanique externe minimale permettant d'atteindre $\dot{V}O_{2\max}$, celle-ci étant établie à partir des critères présentés précédemment. La même démarche peut être utilisée en course à pied ($v\dot{V}O_{2\max}$) (Billat & Koralsztejn, 1996), où la vitesse de course peut être assimilée au rapport puissance mécanique externe développée/poids du sujet.

De nombreuses études ont montré que les puissances mécaniques ou vitesses de courses à SV_1 , SV_2 et $\dot{V}O_{2\max}$ se révèlent de bons indicateurs de la capacité de performance aérobie des athlètes, souvent meilleurs que leurs puissances métaboliques considérées séparément. Ainsi, la vitesse de course sur 3 000m est très proche de $v\dot{V}O_{2\max}$ (Daniels *et al.*, 1984), laquelle reste un paramètre essentiel, meilleur que $\dot{V}O_{2\max}$ elle-même, pour prédire la performance sur des épreuves plus longues telles que le 10 000m (Morgan *et al.*, 1986). Récemment, Billat et al. ont montré que $v\dot{V}O_{2\max}$ et $v\Delta_{50}$ (vitesse proche de $vVT_2 + (v\dot{V}O_{2\max} - vVT_2)/2$) étaient les paramètres les plus prédictifs de la performance sur 10 000m chez des coureurs kenyans de haut niveau (moins de 29 min au 10 000m) (Billat *et al.*, 2003a). Ainsi, les métabolismes aérobie peuvent non seulement être décrit par les puissances métaboliques qu'ils génèrent mais également par des indices mécaniques concrets, tels que les puissances mécaniques externes ou

les vitesses de courses qu'ils permettent de soutenir. Toutefois, il convient d'avoir à l'esprit qu'une participation anaérobie est présente à $v\dot{V}O_{2\max}$ (en accord avec les valeurs élevées de lactatémie), laquelle contribuerait à environ 20% de la puissance métabolique associée à $\dot{V}O_{2\max}$ (Medbo & Tabata, 1989). De plus, bien qu'associée à $\dot{V}O_{2\max}$, $p\dot{V}O_{2\max}$ reste une intensité d'exercice "sous-maximale", correspondant à moins de 40% de la "vraie" puissance mécanique maximale mesurée sur ergocycle lors d'un sprint de 10 sec (Baron, 2001).

Aujourd'hui, SV_1 , SV_2 et $\dot{V}O_{2\max}$ procurent des informations essentielles pour caractériser la capacité de performance aérobie des athlètes (Lucia *et al.*, 1998), paramétrer les intensités d'exercices de leurs séances d'entraînement (Esteve-Lanao *et al.*, 2005) voire quantifier les contraintes physiologiques auxquelles ils sont exposés lors des compétitions (Lucia *et al.*, 1999; Lucia *et al.*, 2003). Dès lors, leur détermination doit faire l'objet de la plus grande attention. En effet, les valeurs de pVT_1 , pVT_2 et $p\dot{V}O_{2\max}$ dépendent largement du protocole de test utilisé pour explorer les capacités à l'exercice des athlètes, et notamment la durée et l'amplitude des paliers employés pour amener progressivement l'athlète à l'épuisement (Billat & Koralsztein, 1996). Ainsi, pour réaliser des comparaisons de résultats intra ou inter-athlète, il est important d'utiliser les mêmes protocoles de tests. A défaut, des protocoles qui utilisent la même vitesse d'augmentation de la puissance mécanique externe, indépendamment des combinaisons durée/amplitude des paliers, pourraient être employés car ils ne semblent pas modifier significativement l'interprétation des résultats, au moins pour $v\dot{V}O_{2\max}$ (ex : 1 km/h x 2 min vs. 0,5 km/h x 1 min) (Billat *et al.*, 1996b). Au delà de leur impact dans le suivi et la programmation de l'entraînement des athlètes, ces précautions sont également indispensables pour déterminer la vitesse d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ au début d'un exercice.

I.1.3. Les cinétiques d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ au début de l'exercice

Alors que les valeurs de $\dot{V}O_2$ à SV_1 , SV_2 et à $\dot{V}O_{2\max}$ renseignent sur les débits de production aérobie d'énergie qu'un athlète peut soutenir, elles ne procurent pas d'informations quand à la rapidité avec laquelle ces ressources sont mobilisables au début d'un exercice. Bien que les mécanismes ne soient pas encore formellement établis, la rapidité d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ mesurée à la bouche permet d'obtenir des informations sur la vitesse de mise en jeu des métabolismes aérobie au niveau musculaire. Cette propriété est actuellement considérée comme un paramètre important contribuant à la performance dans les épreuves d'endurance (Jones & Carter, 2000; Whipp *et al.*, 2005). Déjà avancée au début des années 1980, cette idée suppose que plus la $\dot{V}O_2$ s'adapte vite au départ d'un exercice, moins les métabolismes anaérobies sont

sollicités pour faire face à la brusque augmentation de la demande énergétique. En évitant l'accumulation de métabolites anaérobies qui perturbent le fonctionnement musculaire, l'homéostasie cellulaire est alors mieux conservée, permettant au sujet de maintenir l'exercice sur une période prolongée. Si les mécanismes précis qui contrôlent la vitesse d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ restent encore largement débattus, il est aujourd'hui bien établi que l'intensité de l'exercice joue un rôle déterminant, sur la forme de la cinétique de $\dot{V}O_2$ et également sur le temps de maintien de l'exercice lui-même.

1.1.3.1. Effet de l'intensité de l'exercice

A partir des 3 indices décrits plus hauts (SV_1 , SV_2 et $\dot{V}O_{2\max}$), 4 zones d'intensité d'exercice ont été déterminées, chacune s'accompagnant de ses propres réponses physiologiques, tant au plan métabolique musculaire qu'au niveau des échanges gazeux mesurés à la bouche. Ainsi, Whipp et al. proposent de définir les 4 intensités d'exercice de la manière suivante (Whipp *et al.*, 2005) :

- modérée : niveaux de puissance mécanique externe pour lesquels la lactatémie et le pH artériels restent stables. La limite haute de cette zone d'intensité correspond donc à SV_1 .
- difficile : niveaux de puissance mécanique externe pour lesquels, après une augmentation initiale, la lactatémie et le pH artériels se stabilisent voire retournent à leurs valeurs de départ. Un témoin de la limite haute de cette zone d'intensité correspond à la puissance mécanique maximale pour laquelle un état stable de la lactatémie (ESML) peut être obtenu lors d'un effort constant (Billat *et al.*, 2003b). Bien que cette intensité soit conceptuellement très proche de SV_2 (Dekerle *et al.*, 2003; Meyer *et al.*, 2005), l'assimilation de la puissance mécanique qui lui est associée à pSV_2 doit être faite prudemment car pSV_2 est très protocole dépendante.
- très difficile : niveaux de puissance mécanique externe inférieur à $p\dot{V}O_{2\max}$ et pour lesquels aucune stabilisation de la lactatémie et du pH artériels n'est obtenue, ces variables augmentant jusqu'à la fin de l'exercice ou l'épuisement du sujet. Cette zone correspond aux puissances mécaniques externes comprises entre pSV_2 et $p\dot{V}O_{2\max}$ (ou vSV_2 et $v\dot{V}O_{2\max}$).
- sévère : niveaux de puissance mécanique supérieurs à $p\dot{V}O_{2\max}$ (ou $v\dot{V}O_{2\max}$) qui requièrent une puissance métabolique supérieure à la $\dot{V}O_{2\max}$ du sujet.

Puisque chaque zone d'intensité se caractérise par un profil particulier de réponses métaboliques musculaires et d'échanges gazeux, leur description exhaustive sort du cadre de

notre travail. Par contre, nous allons détailler ci-dessous certains aspects des cinétiques de $\dot{V}O_2$ qui sont associés à la capacité de performance aérobie, notamment dans les zones d'intensité modérée et très difficile.

I.1.3.1.1. Zone d'intensité modérée

Initialement analysée à partir de son demi-temps de stabilisation (Whipp & Wasserman, 1972), la cinétique de $\dot{V}O_2$ au début d'un exercice d'intensité modérée peut aujourd'hui être décrite plus précisément à partir de 3 phases temporelles distinctes :

- entre 0 et environ 20 sec d'exercice: c'est la phase 1 ou phase cardiodynamique au cours de laquelle l'accroissement de la $\dot{V}O_2$ mesurée à la bouche est due à l'augmentation du débit sanguin perfusant les alvéoles pulmonaires, améliorant ainsi les échanges gazeux. La durée de cette phase est révélatrice du temps de transit vasculaire entre les muscles actifs et les capillaires pulmonaires.
- entre 20 sec et 120-180 sec d'exercice : c'est la phase 2, au cours de laquelle le sang désoxygéné issu des muscles actifs parvient aux capillaires pulmonaires. L'ajustement de la $\dot{V}O_2$ mesurée à la bouche reflète alors assez fidèlement la cinétique de $\dot{V}O_2$ musculaire, avec une erreur inférieure à 10% (Grassi *et al.*, 1996; Rossiter *et al.*, 2002).
- après 120-180 sec d'exercice : c'est la phase 3, correspondant à la stabilisation de la $\dot{V}O_2$ à un niveau permettant d'ajuster la production aérobie d'ATP à la consommation engendrée par l'exercice.

Ces phases de la cinétique de $\dot{V}O_2$ à l'exercice modéré sont aujourd'hui analysées par modélisation mathématique à partir de 2 exponentielles (cf Fig 2), possédant chacune un délai d'apparition (td_1 , td_2) une amplitude (A_1 , A_2) et une constante de temps (τ_1 , τ_2). En termes quantitatifs, la phase 2 de la cinétique de $\dot{V}O_2$ constitue la principale phase d'augmentation de la $\dot{V}O_2$, appelée phase fondamentale. La description globale s'établit alors selon l'équation suivante:

$$\dot{V}O_2(t) = \dot{V}O_{2b} + A_1(1 - e^{-(t-td_1/\tau_1)}) \text{ [Phase 1 (phase cardiodynamique)]} + A_2(1 - e^{-(t-td_2/\tau_2)}) \text{ [Phase 2 (phase fondamentale)]}$$

où $\dot{V}O_{2b}$ est la $\dot{V}O_2$ à l'état de base avant le début de l'exercice. τ_1 et τ_2 représentent le temps nécessaire pour atteindre 63% de A_1 et A_2 respectivement. Ainsi, à partir du moment où l'exponentielle débute (après td), la $\dot{V}O_2$ atteint 86% de son amplitude lorsque 2τ se sont

écoulés, indépendamment de la phase considérée ($0,63+0,63\times(1-0,63)=0,86$) (Jones & Poole, 2005). En utilisant la même démarche on peut déterminer que l'ajustement quasi-complet (98%) de la $\dot{V}O_2$ dans une phase donnée prend environ 4τ .

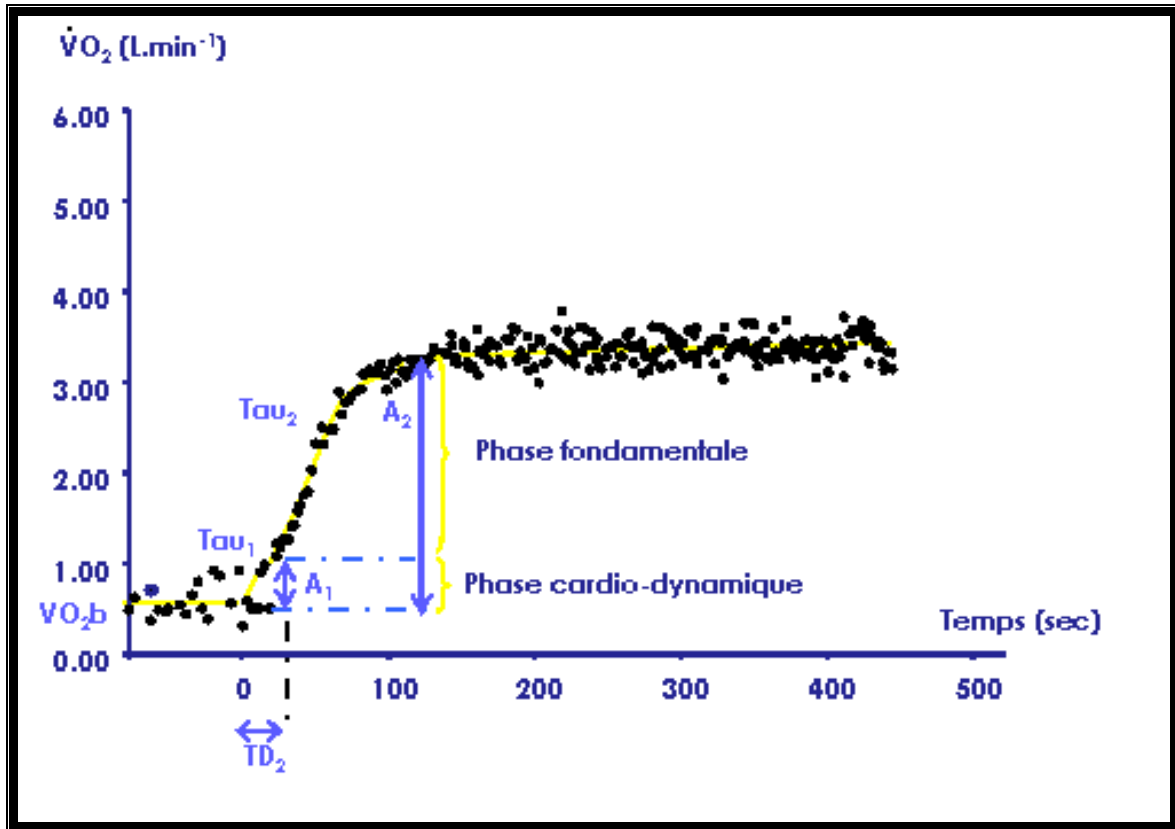


Figure 2: Modélisation de la cinétique de $\dot{V}O_2$ lors d'efforts modérés ($<SV_1$). Par souci de clarté, TD_1 (généralement très court, < 5 sec), n'est pas représenté.

Ce type d'approche « qualitative » de la $\dot{V}O_2$ à l'exercice a permis de mettre en évidence que les athlètes entraînés possèdent la faculté de mobiliser plus rapidement leurs métabolismes aérobie que des sujets sédentaires du même âge (Hagberg *et al.*, 1980; Zhang *et al.*, 1991), voire décrire un "overshoot" au début d'un exercice d'intensité modérée (Koppo *et al.*, 2004). Cette adaptation contribue à réduire le déficit d' O_2 (différence entre demande énergétique totale et production aérobie d'énergie) engendré par l'exercice. Il a également été montré que cette inertie des métabolismes aérobie à l'exercice modéré (mesurée par τ_2) est inversement proportionnelle à $\dot{V}O_{2\max}$ (Whipp *et al.*, 2001; Whipp *et al.*, 2002). Toutefois, τ_2 démontrant une large variabilité inter-individuelle, le pouvoir de ce paramètre pour prédire $\dot{V}O_{2\max}$ et la capacité de performance aérobie des athlètes reste limité (Whipp *et al.*, 2002).

I.1.3.1.2. Zone d'intensité très difficile

Au delà de SV_1 , la cinétique de $\dot{V}O_2$ se complexifie par une modification de la 3^{ème} phase, décrivant une lente dérive de la $\dot{V}O_2$ qui peut se stabiliser au delà des valeurs théoriques (estimées d'après la relation $\dot{V}O_2$ /puissance mécanique obtenue pour des exercices inférieurs à SV_1). Par contre, lorsque l'intensité d'exercice est supérieure à ESML, plus aucun état stable n'est généralement obtenu (cf Fig 3), et la composante lente de $\dot{V}O_2$ amène inexorablement le sujet à l'épuisement (Poole *et al.*, 1994; Gaesser & Poole, 1996). Bien que la forme exacte de la composante lente reste à définir (Whipp *et al.*, 2005), elle est traditionnellement caractérisée par une exponentielle avec ses propres délai d'apparition (td_3), amplitude (A_3) et constante de temps (τ_3). L'équation devient alors :

$$\begin{aligned} \dot{V}O_2(t) = & \dot{V}O_{2b} \\ & + A_1(1 - e^{-[(t - td_1)/\tau_1]}) \text{ [Phase 1 (phase cardiodynamique)]} \\ & + A_2(1 - e^{-[(t - td_2)/\tau_2]}) \text{ [Phase 2 (phase fondamentale)]} \\ & + A_3(1 - e^{-[(t - td_3)/\tau_2]}) \text{ [Phase 3 (composante lente)]} \end{aligned}$$

Puisque la composante lente de $\dot{V}O_2$ apparaît alors que la puissance mécanique externe développée reste constante, elle indique une augmentation du coût en O_2 de l'exercice au fur et à mesure que celui-ci progresse. Etant étroitement associée à une diminution continue de la concentration intramusculaire de PCr (Rossiter *et al.*, 2002), la composante lente de $\dot{V}O_2$ suggère donc une augmentation du coût en phosphates de la production de force musculaire (Bangsbo *et al.*, 2001). En dépit des nombreuses études menées dans ce domaine, les mécanismes précis à l'origine de la composante lente de $\dot{V}O_2$ restent encore largement inconnus. A l'heure actuelle, il est bien accepté que ceux-ci sont essentiellement localisés au sein des membres actifs (Poole *et al.*, 1991) et pourraient inclure un recrutement additionnel de fibres musculaires, en remplacement des fibres musculaires fatiguées (Krustrup *et al.*, 2004a; Krustrup *et al.*, 2004b). En particulier, la mise en jeu des fibres musculaires de type II, caractérisées par un plus important coût en O_2 de la resynthèse d'ATP et/ou un plus grand coût en ATP pour le développement de forces musculaires, serait un mécanisme plausible (Rossiter *et al.*, 1999; Burnley *et al.*, 2002; Rossiter *et al.*, 2002; Rossiter *et al.*, 2003; Garland *et al.*, 2004). Quoiqu'il en soit, la composante lente de $\dot{V}O_2$ joue un rôle important au plan fonctionnel dans la tolérance à l'exercice et l'apparition de la fatigue (Poole *et al.*, 1988; Jones & Poole, 2005).

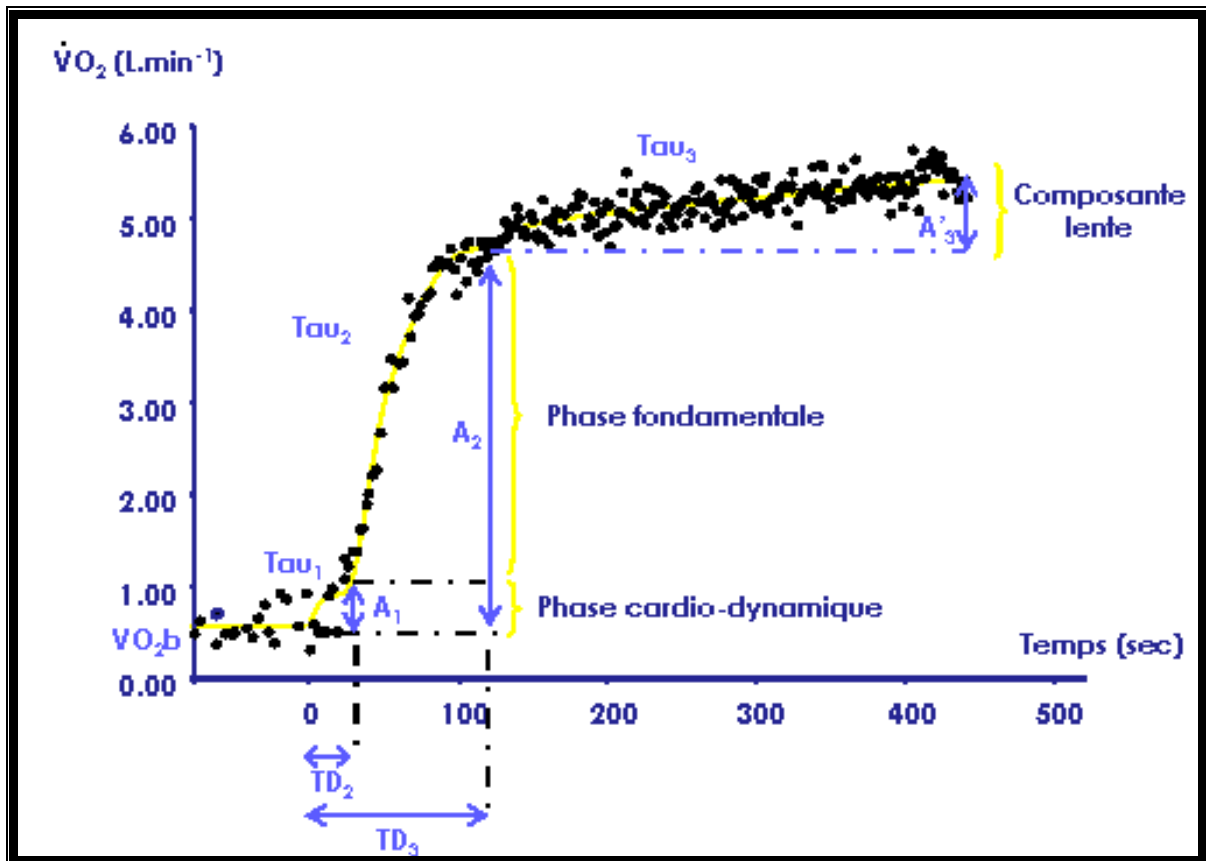


Figure 3: modélisation de la cinétique de $\dot{V}O_2$ lors d'exercices intenses ($>SV_2$). Par souci de clarté, TD1 (très court, $<5\text{sec}$) n'est pas représenté sur le schéma. A'_3 correspond à l'amplitude la composante lente atteinte à l'épuisement du sujet, souvent inférieure à la valeur asymptotique (A_3) modélisée.

De nombreuses études ont montré que l'entraînement en endurance accélère la cinétique de $\dot{V}O_2$ au début d'un exercice réalisé à même puissance mécanique externe dans la zone d'intensité très difficile (Billat, 2000; Carter *et al.*, 2000; Billat *et al.*, 2002; Demarle *et al.*, 2003; Heubert *et al.*, 2003; Caputo & Denadai, 2004). Cette adaptation est obtenue à la fois par une accélération de la phase fondamentale et par une diminution de l'amplitude de la composante lente (Womack *et al.*, 1995; Demarle *et al.*, 2001). Le déficit d' O_2 occasionné par l'exercice est alors réduit, limitant la contribution initiale des métabolismes anaérobies à la fourniture énergétique (peut être au profit d'une contribution plus tardive) qui contribuerait à améliorer le temps de maintien de l'exercice observé après entraînement (Faina *et al.*, 1997; Demarle *et al.*, 2001). Quelques études rapportent que ces adaptations de la cinétique de $\dot{V}O_2$ peuvent survenir sans amélioration concomitante de $\dot{V}O_{2\text{max}}$ (Womack *et al.*, 1995; Demarle *et al.*, 2001; Billat *et al.*, 2002; Heubert *et al.*, 2003), suggérant que la cinétique de $\dot{V}O_2$ pourrait être régulée de manière indépendante des flux maximaux de génération aérobie d'ATP. Dès lors, la rapidité avec laquelle l'athlète est capable de mobiliser ses métabolismes aérobie pour atteindre de hauts

niveaux de puissance métabolique apparaît comme un facteur pouvant influencer la capacité de performance aérobie.

Cette réflexion menée sur l'adaptation de la $\dot{V}O_2$ au début de l'exercice peut également être appliquée à la cinétique de récupération de la $\dot{V}O_2$ après l'exercice. En dépit de son intérêt potentiel en terme de performance, via les facultés de récupération (Tomlin & Wenger, 2001), ce vaste champ expérimental n'a été que peu exploré chez l'athlète (Perrey *et al.*, 2002; Cleuziou *et al.*, 2004) et mériterait d'être plus amplement étudié, d'autant que la cinétique de récupération de la $\dot{V}O_2$ semble très fortement liée aux capacités musculaires de resynthèse de la PCr (Rossiter *et al.*, 2002).

1.1.3.2. Fraction de $\dot{V}O_{2\max}$, temps limite et performance aérobie

Les interactions complexes entre les niveaux absolus de puissance métabolique demandés (ex: $\dot{V}O_{2\max}$) et la cinétique d'ajustement de $\dot{V}O_2$, contribuent à déterminer le temps maximal pendant lequel un athlète peut soutenir un effort d'intensité donnée, ou temps limite (Tlim). Ainsi, Coyle *et al.* rapportent que le Tlim à 88% de $\dot{V}O_{2\max}$ chez des cyclistes entraînés est étroitement associé au seuil lactique (proche de SV_1), exprimé en % de $\dot{V}O_{2\max}$ (Coyle *et al.*, 1988). Une corrélation forte a également été observée entre Tlim à 90% $\dot{V}O_{2\max}$ et le % $\dot{V}O_{2\max}$ correspondant à l'accélération brutale de l'élévation de la lactatémie (proche de SV_2) (Bosquet *et al.*, 2002). Dans cette dernière étude, Tlim à 90 % $\dot{V}O_{2\max}$ s'est révélé être un bon témoin de la performance pédestre sur 3 000m. Lorsqu'il est réalisé à 100% de $\dot{V}O_{2\max}$, Tlim est également considéré comme une mesure de la capacité de performance aérobie, dans la mesure où, chez des athlètes entraînés, il est étroitement corrélé à la vitesse moyenne sur 1 500m et sur semi-marathon (Billat *et al.*, 1994). Les athlètes les plus performants sur semi-marathon seraient donc ceux qui sont capables de soutenir le plus longtemps leur $\dot{V}O_{2\max}$.

Ces études mettent en lumière qu'un même % (ou fraction) de $\dot{V}O_{2\max}$ peut être diversement soutenu suivant les sujets. La fraction de $\dot{V}O_{2\max}$ qu'un athlète peut maintenir pendant une période de temps prolongée apparaît comme largement dépendante de la capacité des muscles actifs à fournir la puissance métabolique demandée de manière aérobie (Williams & Nute, 1983). La relation globale entre intensité d'exercice et Tlim peut être décrite sous la forme d'une exponentielle décroissante. L'intensité d'exercice soutenable diminue alors très rapidement pour les exercices très courts, puis beaucoup plus lentement pour les exercices très longs (cf fig 4). En dehors de l'importance des métabolismes anaérobies, l'intérêt pour les athlètes de combiner des puissances métaboliques aérobies élevées avec une cinétique

d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ rapide prend alors tout son sens, leur permettant de modifier avantageusement la relation intensité d'exercice/ T_{lim} . Déjà important pour des intensités d'exercice proches de $v\dot{V}O_{2\max}$, associées à un T_{lim} moyen d'environ 6min (Bosquet *et al.*, 2002), l'avantage procuré par de telles adaptations est amplifié pour les intensités d'exercice plus faibles. Pour l'athlète, l'intérêt de développer T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ ou $p\dot{V}O_{2\max}$ comme facteur de la performance aérobique devient alors essentiel.

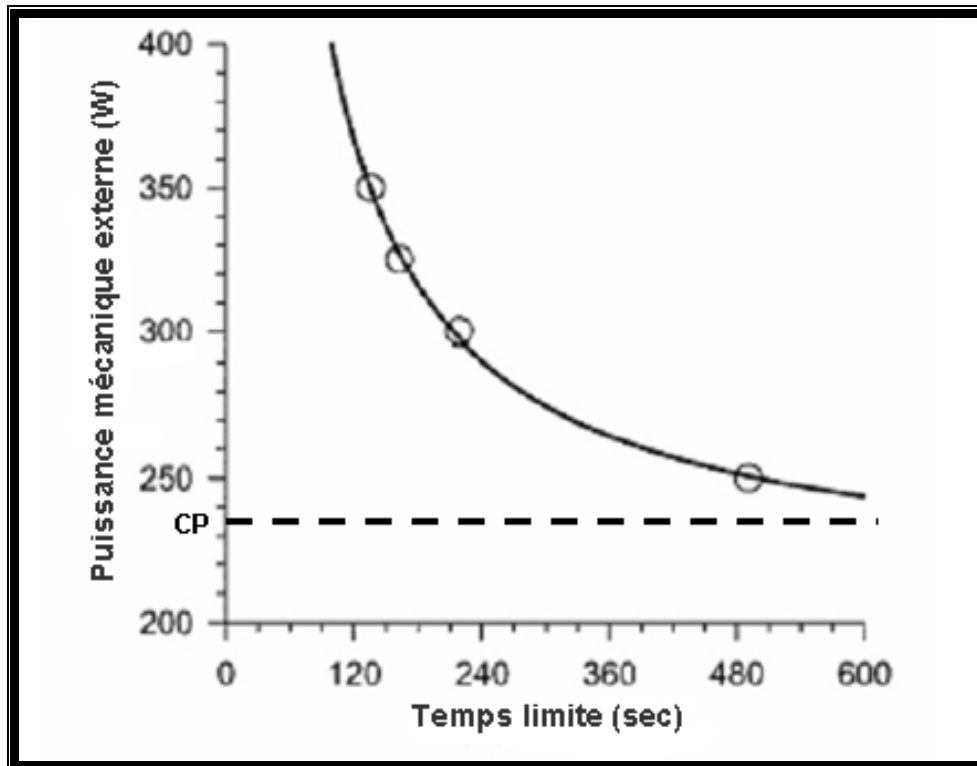


Figure 4: Relation puissance mécanique/Temps limite chez l'homme sain. CP représente la puissance critique et correspond à l'asymptote horizontale de la relation puissance mécanique/temps limite. Dans cette représentation, elle tient compte de la poursuite de la baisse de puissance mécanique au delà des 600 sec d'exercice. Adapté de Fukuba *et al.* (Fukuba *et al.*, 2003).

I.2. Place de la force musculaire dans la performance aérobique

Comme nous l'avons vu plus haut, la notion de puissance mécanique externe développée lors d'une activité sportive fait intervenir le travail mécanique réalisé et le temps nécessaire pour l'accomplir. Or, le travail mécanique correspond à l'application d'une force sur une distance et l'équation utilisée précédemment devient alors :

$$\text{Puissance (W)} = \frac{\text{Travail (J)}}{\text{Temps (s)}} = \frac{\text{Force (N)} \times \text{Distance (m)}}{\text{Temps (s)}}$$

En appliquant cette équation au niveau musculaire, la puissance mécanique externe développée correspond au produit de la force développée par la vitesse de contraction suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Puissance (W)} = \text{Force (N)} \times \frac{\text{Distance (m)}}{\text{Temps (s)}} = \text{Force (N)} \times \text{Vitesse de contraction (m.s}^{-1}\text{)}$$

Bien que des adaptations de cette équation soient nécessaires en fonction du type d'activité à laquelle on s'intéresse (ex : sur un ergocycle la vitesse correspond à la fréquence de pédalage et s'exprime en rad.s^{-1}), les fondements de la puissance musculaire lors d'exercices dynamiques restent la force développée et la vitesse de contraction. Sur le terrain, même si certains athlètes défrayent la chronique en utilisant une vitesse de contraction inhabituellement élevée (ex : Armstrong sur les cols du Tour de France), le paramètre vitesse ne varie que dans des proportions limitées afin de ne pas perturber la coordination inter et/ou intra musculaire (de Koning & van Soest, 2002). En conséquence, c'est surtout l'augmentation de la force musculaire qui permet d'augmenter la puissance mécanique externe développée par l'athlète. A titre d'exemple, lors d'un test d'effort progressif (50W/3min), un cycliste de bon niveau va multiplier par 8 sa puissance développée entre le 1^{er} et le dernier palier du test ($\dot{V}O_{2\text{max}}$ estimée à environ 400W). En estimant que cet athlète va utiliser une amplitude de fréquence de pédalage correspondant à celles observées en situation de compétition sur le terrain, soit entre 60 et environ 100 rotations par minute (Lucia *et al.*, 2001b), la puissance mécanique s'élèverait d'environ 1,8 fois. L'essentiel de l'augmentation de la puissance mécanique est donc assuré par l'élévation de la force musculaire exercée sur les pédales. Dans ce contexte, la capacité à générer des forces musculaires importantes en régime aérobie apparaît comme un facteur important de la capacité de performance aérobie. Idéalement, le développement de force doit également pouvoir se réaliser avec le plus faible coût en O_2 possible, contribuant à minimiser la dépense énergétique qui lui est associée

I.2.1. Force musculaire et performance aérobie

Quelle que soit l'activité sportive, les valeurs de puissances mécaniques externes développées par les athlètes en régime aérobie ($<$ ou égale à $\dot{V}O_{2\text{max}}$) sont bien souvent des valeurs moyennes, mesurées sur l'ensemble du mouvement analysé. Ainsi, sur ergocycle, $\dot{V}O_{2\text{max}}$ correspond à la moyenne de puissance développée au cours du cycle de pédalage (rotation complète de la pédale). La même observation vaut également pour l'aviron ou pour la course à pied. Ainsi, certains athlètes parviennent à atteindre des valeurs élevées de puissances mécaniques externes (typiquement autour de 450W à 90 rpm chez des cyclistes professionnels)

(Lucia *et al.*, 1998), lesquelles correspondent à une force musculaire moyenne exercée sur les pédales de l'ordre de ~ 140 N ou $\sim 14,3$ kg, développée par chaque jambe. Cependant, ces forces musculaires moyennes cachent en réalité une grande variabilité au cours du cycle de pédalage. D'après les travaux de Coyle *et al.* qui ont analysé l'évolution des forces appliquées sur les pédales au cours du cycle de pédalage, des valeurs de puissance mécanique moyennes de l'ordre de 340W nécessitent le développement, certes temporaire mais indispensable, de forces musculaires pics pouvant atteindre environ 451N ou 46kg par jambe (Coyle *et al.*, 1991). Les niveaux de forces musculaires pics atteints pour des puissances mécaniques plus importantes restent hypothétiques, mais sont forcément bien supérieurs encore à ceux décrits par Coyle *et al.* Lorsqu'on imagine que ces niveaux de forces musculaires sont répétés un grand nombre de fois en situation de compétition, (ex: ascensions de cols), on perçoit alors clairement le rôle de la force musculaire dans la performance aérobie. La même analyse peut être menée en course à pied, où l'importance de la capacité de développement de force est exacerbée par l'aspect "porté" de l'activité. Des données expérimentales obtenues sur tapis roulant incluant une plate-forme de force indiquent que les forces verticales exercées par un athlète de 71 kg courant à $20 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ atteignent plus de 2000 N (Borroni *et al.*, 2003). Cela équivaut à porter un poids de plus de 132kg sur les épaules avec une seule jambe lors de chaque contact du pied avec le sol!

La capacité de force musculaire est également considérée comme un déterminant important de la puissance mécanique maximale atteinte lors d'une épreuve d'effort progressive (P_{\max}) (Parker *et al.*, 2003). En effet, un plateau de $\dot{V}O_2$ est souvent obtenu chez les athlètes dans ce type d'épreuve (Doherty *et al.*, 2003) et $\dot{V}O_{2\max}$ apparaît alors avant l'épuisement. Dans ce cas, P_{\max} est légèrement supérieure à $p\dot{V}O_{2\max}$ et la capacité de force musculaire maximale contribue à la poursuite de l'augmentation de la puissance mécanique développée. $\dot{V}O_{2\max}$ et la force musculaire maximale apparaissent alors comme 2 déterminants importants de P_{\max} , laquelle est considérée comme un très bon indicateur de la capacité de performance aérobie (Noakes *et al.*, 1990; Bentley *et al.*, 1998; Bentley *et al.*, 2001).

Dans ce contexte, la place de la force musculaire apparaît clairement comme un facteur important de la performance aérobie. Comme nous le verrons plus loin, certaines techniques d'entraînement des athlètes s'intéressent particulièrement à cet aspect pour améliorer la performance aérobie.

I.2.2. Phénotype contractile et coût énergétique

Les capacités de force musculaire dépendent essentiellement de la masse musculaire active ainsi que du type de fibre musculaire (I, IIA ou IIX) qui la compose. Ces 2 facteurs interagissent pour utiliser l'énergie métabolique et développer la puissance mécanique externe nécessaire à la réalisation de l'exercice. De manière réciproque, ces 2 facteurs vont également déterminer les besoins énergétiques requis et donc le niveau de puissance métabolique que les systèmes énergétiques doivent fournir. La conversion de l'énergie chimique (ATP) fournie par les métabolismes énergétiques, en énergie mécanique, produite par les fibres musculaires actives, n'est pas parfaite. En effet, une large fraction de l'énergie métabolique produite se dissipe dans le tissu musculaire, si bien que l'énergie mécanique générée (puissance mécanique externe) ne représente qu'une petite partie de l'énergie métabolique produite (puissance métabolique). L'efficacité de cette conversion chimico-mécanique d'énergie représente également un facteur important de la performance aérobie et peut être quantifiée chez l'athlète à travers les notions de rendement et de coût énergétique.

1.2.2.1. Rendement, coût énergétique et économie de locomotion

La notion de rendement énergétique traduisant l'efficacité de l'utilisation de l'énergie disponible a été mesurée de plusieurs manières (rendement brut, net, utile, ou basé sur des amplitudes de travail mécanique, etc...) mais le principe fondamental de son évaluation correspond au rapport entre la quantité de travail effectué (énergie mécanique produite) et la dépense d'énergie nécessaire pour l'accomplir (énergie métabolique produite) (Kaneko, 1990). Puisque le temps de l'exercice est fixe et identique pour la production d'énergie mécanique et d'énergie métabolique, il est aussi possible d'utiliser les valeurs de puissances mécanique et métabolique pour calculer le rendement. Si l'on prend l'exemple du rendement brut l'équation est la suivante:

$$\text{Rendement brut (\%)} = \frac{\text{énergie mécanique (J)}}{\text{énergie métabolique (J)}} \times 100 = \frac{\text{puissance mécanique (W)}}{\text{puissance métabolique (W)}} \times 100$$

La quantification exacte de l'énergie métabolique produite prend en compte l'énergie métabolique totale produite, assurée à la fois par les métabolismes anaérobies et aérobie. Les calculs de la part anaérobie d'énergie se révélant assez difficiles à réaliser, il est commode d'estimer le rendement pour des intensités d'exercice où la puissance métabolique est essentiellement assurée par les métabolismes aérobie. Lorsque le rendement est ainsi approché par la $\dot{V}O_2$ rapportée à une vitesse de déplacement, on parle de coût énergétique (CE,

représentant le coût en O₂ de la locomotion) (Brisswalter & Hausswirth, 2003). En course à pied, CE peut alors se calculer par le rapport entre la $\dot{V}O_2$ mesurée à l'état stable et la vitesse de course. Il peut être affiné si l'on prend le soin de soustraire la $\dot{V}O_2$ de repos à la valeur mesurée à l'exercice (di Prampero, 1986):

$$CE_{\text{course}} (\text{ml O}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{km}^{-1}) = \frac{\dot{V}O_2 (\text{mlO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}) - \dot{V}O_2 \text{ de repos (mlO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})}{\text{Vitesse de course (km} \cdot \text{min}^{-1})}$$

La même démarche est possible pour un grand nombre d'exercices, pourvu que le travail mécanique réalisé puisse être quantifié. Ainsi, sur ergocycle, CE sera le rapport entre la $\dot{V}O_2$ mesurée à l'état stable (moins la $\dot{V}O_2$ de repos) et la puissance mécanique fournie, représentant alors le coût énergétique du watt développé (Wasserman *et al.*, 1999):

$$CE_{\text{ergocycle}} (\text{mlO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{watt}^{-1}) = \frac{\dot{V}O_2 (\text{mlO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}) - \dot{V}O_2 \text{ de repos (mlO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})}{\text{Puissance mécanique (W)}}$$

Enfin, pour éviter tout calcul, certains auteurs ont également proposé d'exprimer CE par la notion d'économie de locomotion. Celle-ci correspond alors simplement à la $\dot{V}O_2$ mesurée pour une puissance mécanique sur ergocycle (économie de pédalage) ou une vitesse de course donnée (économie de course) (Cavanagh & Williams, 1982).

Quelle que soit la méthode choisie pour calculer le CE, les $\dot{V}O_2$ utilisées doivent être sous maximales, afin de rester un témoin fiable de l'efficacité de la conversion d'énergie chimique en énergie mécanique. Si les intensités d'exercices utilisées pour son calcul sont plus élevées, la part des métabolismes anaérobies à la fourniture énergétique augmente et la $\dot{V}O_2$ n'est plus représentative de la dépense énergétique réelle. Idéalement, pour une détermination fiable de CE, l'intensité d'exercice devrait se situer en dessous de SV_1 (di Prampero *et al.*, 1986). En course à pied, Billat propose de limiter la vitesse d'étude de CE à 60% de la vitesse record d'un athlète sur une épreuve de 1000m (Billat, 2003). Au-delà de cette intensité, le calcul de CE à partir de la $\dot{V}O_2$ devient essentiellement un indicateur de l'efficacité de l'utilisation de l'O₂, et non plus de l'énergie totale. Toutefois, il reste instructif sur l'habilité à rentabiliser l'utilisation de l'O₂ aux intensités proches de celles rencontrées en compétition (proches de $\dot{V}O_{2 \text{ max}}$). Ainsi, les athlètes possédant un bon CE utiliseront moins d'O₂ pour développer la même puissance ou courir à la même vitesse que des athlètes possédant un CE moins élevé.

Puisque que les meilleures valeurs de rendement n'excèdent pas 30%, cela signifie qu'une grande partie de l'énergie métabolique produite n'est pas restituée sous forme d'énergie

mécanique. Si l'essentiel de la déperdition d'énergie s'effectue sous forme de chaleur dissipée dans les tissus en activité, CE est également déterminé par la technique gestuelle (coordination musculaire, relâchement des groupes musculaires non moteurs, etc...). Toutefois, dans la mesure où celle-ci est bien établie, CE dépend essentiellement du coût énergétique de la resynthèse d'ATP et du coût en ATP de la production de force musculaire, contribuant ainsi à l'importance du CE dans la capacité de performance aérobie.

1.2.2.2. Composantes métaboliques du coût énergétique

Les métabolismes énergétiques sont chargés de fournir l'ATP nécessaire pour soutenir le travail mécanique demandé lors de l'exercice. Suivant le type de fibre qui compose le ou les groupes musculaires activés, la quantité d'ATP requise pour assurer une force constante varie. Ainsi, la plus grande rapidité d'enchaînement des ponts actine-myosine qui est à l'origine de la vitesse de contraction des fibres de type II, implique également d'utiliser une plus grande quantité d'ATP pour maintenir une force constante (Close, 1964). De plus, une telle répétition de la formation de ponts actine-myosine implique également une régulation calcique intracellulaire majorée, jusqu'à 10 fois supérieure dans les fibres II vs. I (Gibbs & Gibson, 1972; Wendt & Gibbs, 1973). Puisque le repompement du Ca^{2+} est sous le contrôle d'une ATPase, les fibres de type II dépensent donc plus d'ATP pour la régulation calcique que leurs homologues de type I. Ces deux phénomènes pourraient donc expliquer une large part du surcoût en ATP de la mise en jeu des fibres de type II (Brisswalter & Hauswirth, 2003).

Ces hypothèses sont relativement bien vérifiées par des observations expérimentales montrant que le CE est proportionnel au pourcentage de fibres de type I dans le muscle vaste latéral lors d'un exercice de pédalage chez l'homme (Coyle *et al.*, 1992). Chez l'animal, la demande énergétique peut également être jusqu'à 6 fois supérieure dans les fibres de type II, laissant apparaître que le type de fibre est un déterminant important de CE.

1.2.2.3. Composantes mécaniques du coût énergétique

A l'interface entre les ponts actine-myosine et les insertions tendineuses sur les leviers osseux, la transmission des forces musculaires est un processus complexe, faisant intervenir un grand nombre de structures anatomiques différentes. Au-delà des protéines du phénotype contractile musculaire, la transmission des forces musculaires fait également intervenir le tissu tendineux et la matrice extracellulaire présente dans les tissus tendineux et musculaires (Kjaer, 2004). Ces trois tissus interagissent pour assurer une transmission efficace des forces

musculaires et générer le mouvement (Huijing, 1999). Cet ensemble anatomique confère au muscle des propriétés contractiles mais aussi élastiques, qui participent à la transmission des forces générées au niveau moléculaire. Ainsi, un ensemble muscle, tendon et matrice extracellulaire moins compliant (plus raide) pourrait avoir l'avantage de moins se déformer lors de la contraction musculaire et transmettre ainsi plus efficacement les forces.

Cet avantage théorique semble se confirmer, au moins dans les exercices musculaires mettant en jeu une succession très rapide de phases d'étirement-raccourcissement du muscle ("stretch-shortening"), tel qu'en course à pied. Les résultats de plusieurs études s'accordent à dire qu'une relation existe entre les qualités de souplesse des membres inférieurs et CE. Les athlètes les plus souples n'étant pas ceux qui possèdent le meilleur CE (Jones, 2002; Saunders *et al.*, 2004a). Les mécanismes exacts à l'origine de cette relation ne sont pas définitivement établis, mais pourraient être liés à la capacité de stockage et de restitution d'énergie dans les structures élastiques musculaires (Cavanagh & Kram, 1985b, a). Plus l'ensemble muscle, tendon et matrice extracellulaire serait raide, plus il pourrait restituer efficacement l'énergie enmagasinée lors d'une phase d'étirement, procurant ainsi jusqu'à 50% de l'énergie mécanique produite (Cavagna, 1977). Dans les activités plus lentes, l'importance de ce phénomène est théoriquement moins décisif mais reste inconnu. A titre d'exemple, la présence de stockage-restitution d'énergie sur ergocycle reste hypothétique dans la mesure où la phase d'étirement musculaire est très limitée, voire inexistante, et que la phase de raccourcissement n'est pas enchaînée aussi rapidement qu'en course à pied.

1.2.2.4. Coût énergétique et performance aérobie

Des facteurs tant métaboliques que mécaniques contribuent à déterminer la valeur de CE chez un individu et pour un type d'activité donné. Dans la mesure où CE est étroitement associé à la capacité de performance aérobie (Morgan *et al.*, 1989a; Morgan *et al.*, 1989b), ces facteurs constituent d'importants déterminants du succès dans les épreuves sportives d'endurance. En effet, alors que SV_1 , SV_2 , $\dot{V}O_{2\max}$ et la cinétique de $\dot{V}O_2$ contribuent à déterminer la capacité de performance aérobie d'un athlète, ils ne permettent pas toujours de prédire la performance au sein d'un groupe d'athlètes homogène (Sjodin & Svedenhag, 1985). Par contre, Conley et Krahenbuhl ont montré que dans un tel groupe, les meilleurs coureurs sur 10 000m possèdent également le meilleur CE (Conley & Krahenbuhl, 1980). Un meilleur CE permet à l'athlète de maintenir une vitesse de course plus élevée pour la même puissance métabolique et ce mécanisme expliquerait une partie de la supériorité des coureurs kenyans sur leurs concurrents

européens dans les disciplines d'endurance (Weston *et al.*, 2000). Chez les coureurs à pied comme chez les cyclistes de haut niveau, un bon CE peut compenser une $\dot{V}O_{2\max}$ parfois relativement basse ($<70 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) et contribuer ainsi à leur réussite sportive (Morgan & Daniels, 1994; Lucia *et al.*, 2002).

I.3. Intégration des facteurs de la performance aérobie

Bien que la contribution des métabolismes anaérobies soit loin d'être négligeable, une large part de la capacité de performance d'un athlète dans les épreuves d'endurance est conditionnée par le développement optimal des métabolismes aérobies. De nombreux paramètres physiologiques permettent de caractériser la capacité de performance aérobie d'un athlète. Ceux-ci possèdent un pouvoir raisonnablement prédictif sur la réalisation d'une performance dans les épreuves d'endurance. Notre propos n'est pas ici de détailler les modèles qui tentent de "mettre la performance en équation", mais simplement de faire remarquer qu'ils mettent en évidence l'importance des niveaux de puissances métabolique et mécanique associés aux métabolismes aérobies. Dans ce contexte, la capacité de production aérobie d'ATP, ainsi que la capacité du muscle à utiliser l'ATP pour développer des forces, sont essentielles à l'atteinte d'un haut niveau de performance dans les épreuves d'endurance. A travers la production d'énergie métabolique et d'énergie mécanique, le muscle fait l'objet de stimuli métaboliques et mécaniques, lesquels sont à la base d'adaptations physiologiques à l'exercice et à l'entraînement.

I.3.1. Le coût énergétique: un lien entre puissance métabolique et puissance mécanique

Un des groupes de recherche les plus actifs dans la modélisation de la performance, tout type de locomotion confondu, est le groupe du Prof. Pietro Di Prampero en Italie. Leurs nombreuses publications dans le domaine tournent autour de l'estimation de la puissance mécanique développée par l'athlète à partir de quelques uns de ses indices physiologiques les plus représentatifs (di Prampero, 1986; Brueckner *et al.*, 1991; di Prampero, 2000). Ainsi, en course à pied, pour des vitesses inférieures ou égales à $v\dot{V}O_{2\max}$, ils proposent la relation suivante (Di Prampero *et al.*, 1993):

$$\text{Vitesse de course (m}\cdot\text{min}^{-1}) = \frac{F \times \dot{V}O_2 \text{ max (mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})}{\text{CE (mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{m}^{-1})}$$

Où F représente la fraction de $\dot{V}O_2 \text{ max}$ que l'athlète peut maintenir sur la durée de l'exercice et CE le coût énergétique calculé en s'affranchissant de la $\dot{V}O_2$ de repos.

Cette modélisation permet d'estimer la performance sur des distances de course allant du 800m au marathon, avec une erreur inférieure à 8% (di Prampero *et al.*, 1986; Di Prampero *et al.*, 1993). Puisque CE reste constant sur une large plage de vitesses de course, la course à pied représente un mode d'exercice idéal pour mettre au point ces équations. Même si les équations utilisées sont nécessairement différentes pour tenir compte des modifications de CE en fonction de la vitesse de déplacement (résistance hydro ou aérodynamiques), le même type d'approche a également été proposé dans d'autres sports et notamment en natation (di Prampero, 1986) et en cyclisme (Capelli *et al.*, 1998).

Ces modélisations font apparaître le rôle déterminant de la puissance métabolique produite ($F \times \dot{V}O_2 \text{ max}$) et de la puissance mécanique externe générée (vitesse de course) par l'athlète, comme facteurs déterminants de la capacité de performance aérobie. Si la performance en endurance est sensible à des paramètres métaboliques et mécaniques, la structure et la fonction musculaire sont également déterminées par les niveaux de stimulation métabolique et mécanique imposés sur le muscle (Fluck & Hoppeler, 2003), tout particulièrement lorsque ces niveaux de stimulation sont élevés sur des périodes prolongées. Ceux-ci sont alors perçus comme des signaux physiologiques dont les répercussions sont vastes et pas encore totalement éclaircies. Néanmoins, des évidences expérimentales s'accumulent tendant à montrer le rôle important des signaux musculaires métaboliques et mécaniques dans les adaptations musculaires et systémiques, tant à l'exercice aigu que chronique (Hoppeler & Fluck, 2002; Fluck, 2004).

I.3.2. Notion de stimulus métabolique

L'activation de production aérobie d'énergie est associée à des perturbations de la composition du milieu intracellulaire, lesquelles augmentent à mesure que la production d'ATP accélère. Ainsi, il est bien établi que l'accumulation intracellulaire d'ADP, de PCr, d'AMP et l'augmentation du rapport ADP/ATP représentent les principales voies d'activation de la respiration mitochondriale et de la production aérobie d'ATP (Conley *et al.*, 2001; Kushmerick & Conley, 2002). En parallèle, la pression partielle en O_2 diminue tant dans le compartiment

sanguin veineux (Stringer *et al.*, 1994; Wasserman, 1999) qu'au sein même des cellules musculaires (Richardson *et al.*, 1995). Lorsque l'intensité d'exercice s'approche de $\dot{V}O_{2\max}$, les métabolismes anaérobies contribuent de manière non négligeable à la fourniture énergétique. Via la voie de la glycolyse anaérobie, les réserves intracellulaires en glycogène diminuent de manière accélérée, engendrant une augmentation de la lactatémie et une accumulation, d'abord intracellulaire, puis sanguine d'ions H^+ (Wasserman *et al.*, 1999). Même si les ions HCO_3^- peuvent tamponner les ions H^+ dans une certaine mesure, au-delà de SV_2 , l'accumulation d'ions H^+ dépasse le pouvoir tampon des ions HCO_3^- et le pH musculaire et sanguin baisse inexorablement. Toutes ces perturbations de l'homéostasie musculaire et sanguine doivent être interprétées comme des indicateurs de la stimulation métabolique qui s'exerce sur les muscles en activité. Celles-ci font l'objet de détections très fines jouant un rôle important dans les adaptations à l'exercice aigu, telle que les adaptations cardiorespiratoires. Le système nerveux central est un des ces détecteurs, via les fibres nerveuses afférentes, dites métabo ou chémo-sensitives, sensibles aux modifications métaboliques interstitielles (pH, ADP, etc...) du tissu musculaire (Mitchell & Schmidt, 1983).

Par contre, les mécanismes responsables des adaptations métaboliques à l'exercice chronique (entraînement) restent encore imparfaitement connus. Néanmoins, au niveau moléculaire, il est aujourd'hui considéré que des stimuli métaboliques sont à la base des adaptations du phénotype métabolique musculaire, via des voies de signalisation spécifiques des stimuli métaboliques. Ainsi, une baisse du rapport ATP/AMP est considéré comme un stimuli métabolique puissant, capable d'activer la voie des AMP kinases (Bergeron *et al.*, 2001). A partir de stimuli métaboliques, celles-ci conduisent à l'activation spécifique de gènes codant pour des protéines structurales et/ou fonctionnelles impliquées dans la production d'énergie métabolique (Hood, 2001). On touche ici aux fondements physiologiques des adaptations à l'entraînement, via la mise en jeu de protéines kinases, de facteurs de transcription et de processus d'activation génétique sélective. Ces mécanismes permettent alors d'adapter progressivement la structure et le fonctionnement du muscle aux contraintes métaboliques qu'il subit, en modifiant son phénotype métabolique afin de faciliter la production et la distribution d'énergie cellulaire.

I.3.3. Notion de stimulus mécanique

A l'instar des signaux métaboliques, les stimulations mécaniques exercées sur les muscles actifs augmentent les niveaux de tension appliqués sur les structures musculo-tendineuses

chargées de transmettre les forces musculaires. En dehors du muscle actif, ces tensions peuvent aussi être détectées par d'autres tissus impliqués dans la transmission des forces musculaires, tels que les tendons et/ou la matrice extracellulaire (Kjaer, 2004). Les niveaux de tension appliqués sur les structures musculo-tendineuses constituent également d'importants signaux physiologiques pouvant engendrer une réponse cardiorespiratoire. En effet, comme pour les signaux métaboliques, le système nerveux central est capable de détecter ces niveaux de tension, via des fibres nerveuses afférentes dites mécano-sensitives. Celles-ci sont localisées autour des fibres musculaires, dans la matrice extracellulaire et également dans les tissus tendineux via les organites de Golgi (Mitchell, 1985; Kjaer, 2004).

A plus long terme, les stimulations mécaniques appliquées sur le système musculo-tendineux et en particulier sur la matrice extracellulaire, conduisent également à des adaptations structurales et fonctionnelles importantes, visant à rendre le système plus résistant aux contraintes mécaniques et à optimiser les capacités de production et de transfert de la force musculaire (Kjaer, 2004). Là encore, les mécanismes qui permettent de transformer les stimuli mécaniques en adaptations protéiques restent obscurs et de multiples voies de signalisation pourraient coexister (Fluck & Hoppeler, 2003). Néanmoins, le rôle de la matrice extracellulaire pourrait être central dans ces adaptations puisque cette structure concentre l'essentiel des contraintes mécaniques (Patel & Lieber, 1997). A l'interface entre la matrice extracellulaire et les cellules musculaires qu'elle entoure, se trouvent des complexes d'adhésion localisés ("focal adhesion complexes"), permettant la transmission transmembranaire des forces musculaires (Gordon *et al.*, 2001). Ces complexes intègrent de nombreuses protéines structurales et de signalisation, lesquelles pourraient fonctionner comme des détecteurs de tension mécanique. Même si les mécanismes mis en œuvre restent largement incertains, il est établi que les stimuli mécaniques chroniques engendrent des adaptations protéiques, via l'activation sélective de gènes impliqués dans la régulation du phénotype contractile musculaire et dans les protéines structurales du système musculo-tendineux (Kjaer, 2004). Au niveau moléculaire, il semble que ces adaptations soient initiées par l'expression rapide de gènes précoces cibles ("immediate early genes", jun et fos) dans l'heure qui suit l'exercice (Dawes *et al.*, 1996), et cela de manière tension dépendante (Puntschart *et al.*, 1998). En parallèle, l'activation de protéines kinases spécifiques (mitogen activated protein kinase, MAPK) pourrait activer des facteurs de transcription à l'origine d'une modification de l'expression génétique. L'activité contractile est également accompagnée de fluctuations transitoires de la concentration en calcium (Ca^{2+}) intracellulaire, lequel peut se lier à un grand nombre de protéines (Berchtold *et al.*, 2000). Participant à la régulation de la contraction musculaire elle-même (troponine C), ces protéines "activées" par le Ca^{2+} (telles que le complexe calmoduline/calcineurine) sont également impliquées dans le

métabolisme protéique, la différenciation et la croissance musculaire (Berchtold *et al.*, 2000). En bout de chaîne, l'intégration de l'ensemble de ces réactions moléculaires permettrait d'adapter progressivement la structure et la fonction du système musculo-tendineux aux contraintes mécaniques qu'il subit, par modification du phénotype contractile musculaire et des protéines structurelles environnantes. Ces changements faciliteraient non seulement la production de forces musculaires, mais aussi optimiseraient leur transmission entre les ponts actine-myosine et les extrémités tendineuses externes.

CHAPITRE II : AMELIORATION DE LA PERFORMANCE AEROBIE PAR L'ENTRAINEMENT : ROLE DES STIMULI METABOLIQUES ET MECANIQUES

Au-delà des dérives qui l'accompagnent, la performance de haut niveau reste le fruit de nombreuses années d'entraînement au cours desquelles la réalisation régulière et programmée des séances d'entraînement et des compétitions, génère d'importants stimuli métaboliques et mécaniques. En conséquence, les facteurs physiologiques impliqués dans les processus de production d'énergie métabolique et d'énergie mécanique (cf chapitre précédent) s'améliorent et permettent une meilleure tolérance à l'exercice, base de l'amélioration de la performance. Sans cycles stimulation/adaptation/amélioration, l'entraînement, même acharné, est inefficace voire délétère. Dans ce contexte, l'entraînement optimal consiste à trouver les exercices procurant les stimuli les plus efficaces tout en restant "assimilables", garantissant ainsi une balance progression/régression favorable à l'athlète (Smith, 2003).

Les signaux métaboliques et mécaniques générés par l'exercice constituent les stimuli initiateurs des adaptations structurelles et fonctionnelles, musculaires mais aussi systémiques, à l'entraînement physique (Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004). Après plus d'un siècle de démarches empiriques et/ou scientifiques, les techniques d'entraînement modernes visent aujourd'hui à manipuler très précisément la charge d'entraînement imposée à l'athlète dans le but d'obtenir des stimulations spécifiques de la ou des qualité(s) physique(s) à développer. La charge d'entraînement intègre alors à la fois des stimulations métaboliques et des stimulations mécaniques. Bien que des combinaisons quasi infinies de stimulations métaboliques et mécaniques peuvent être imaginées pour constituer les séances d'entraînement, toutes deux évoluent de manière très similaire, étroitement liés par le coût énergétique de l'activité. En conséquence, la part respective des stimuli métaboliques et mécaniques dans les adaptations à l'entraînement et l'amélioration de la performance aérobique reste peu connue. De plus, l'élévation des stimuli métaboliques vs. stimuli mécaniques pourrait améliorer la performance aérobique via des adaptations différentes, potentiellement spécifiques des facteurs respectivement métaboliques et mécaniques de la performance.

L'entraînement en altitude et l'entraînement de la force musculaire présentent des propriétés de stimulation métabolique et mécanique qui pourraient apporter quelques éléments de réponse à ce sujet. Les paragraphes ci-dessous en dressent les principaux enseignements.

II.1. La charge d'entraînement: un déterminant des effets de l'entraînement

De nombreux facteurs biologiques, psychologiques, sociaux ou environnementaux interviennent pour déterminer la progression d'un athlète à l'issue d'une période d'entraînement (Myburgh, 2003). Néanmoins, la charge de travail ou charge d'entraînement réalisée par l'athlète constitue un moyen puissant pour inciter l'organisme à s'adapter et améliorer la capacité de performance. La charge d'entraînement est caractérisée par la répétition des exercices effectués à l'entraînement, lesquels sont généralement prescrits en terme d'intensité et de durée ainsi que par la fréquence de répétition des séances (Noakes, 1991). Ainsi, chaque séance d'entraînement peut alors être caractérisée par les niveaux de stimulations métaboliques et mécaniques qu'elle impose. Des études récentes proposent de quantifier globalement la charge d'entraînement à partir de la notion d'impulsion d'entraînement ("training impulse", TRIMP), laquelle intègre dans un même indicateur les paramètres d'intensité, de durée et de fréquence des séances (Banister *et al.*, 1999; Padilla *et al.*, 2000a; Foster *et al.*, 2001). Les TRIMPs donnent alors une indication sur la charge d'entraînement globale imposée à l'athlète.

II.1.1. Intensité d'exercice et stimuli métaboliques

Pour les disciplines d'endurance, l'intensité des exercices réalisés à l'entraînement (Seiler & Kjerland, 2004; Esteve-Lanao *et al.*, 2005), voire en compétition (Lucia *et al.*, 1999; Lucia *et al.*, 2003), peut être définie à partir de la puissance métabolique générée par les métabolismes aérobie et des stimuli métaboliques qui lui sont associés. De nombreux paramètres physiologiques ont été utilisés pour déterminer les intensités d'entraînement, tels que la FC, la lactatémie ou la $\dot{V}O_2$, exprimés en valeurs absolues ou relatives (%max). Toutefois, certains auteurs avancent qu'exprimer l'intensité d'exercice en fonction des paramètres maximaux (% $\dot{V}O_{2\max}$, %FC max, etc...) ne tient pas compte des capacités individuelles à l'exercice sous maximal, et ne représentent donc pas la même intensité d'exercice pour chaque athlète (Meyer *et al.*, 1999). Cela suggère que les flux d'énergie générés par les métabolismes aérobie doivent être complétés par les perturbations de l'homéostasie cellulaire qu'ils induisent, afin d'améliorer l'estimation de l'intensité d'exercice et de la stimulation métabolique associée. Une détermination plus fine de l'intensité d'exercice peut alors s'établir à partir des seuils métaboliques et de $\dot{V}O_{2\max}$, définissant ainsi des zones d'intensité largement utilisées à l'entraînement (Lucia *et al.*,

1999; Padilla *et al.*, 2000b; Billat *et al.*, 2001a; Padilla *et al.*, 2001; Billat *et al.*, 2003a; Lucia *et al.*, 2003).

Dans ce contexte, l'intensité d'exercice, les perturbations homéostatiques et les signaux métaboliques qui l'accompagnent sont considérés comme de puissants stimuli métaboliques pour les adaptations structurelles et fonctionnelles impliquées dans la production de puissance métabolique (Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004).

II.1.2. Intensité d'exercice et stimuli mécaniques

L'intensité d'exercice peut aussi être exprimée en fonction de la puissance mécanique externe développée par l'athlète et des signaux mécaniques qui lui sont associés. Lorsque la vitesse gestuelle est connue, la puissance mécanique développée permet alors d'estimer les niveaux de tension qui sont appliqués sur les éléments structurels générateurs et transmetteurs de la force musculaire. La puissance mécanique externe développée peut alors être exprimée en valeur absolue (W) ou relative (%p $\dot{V}O_{2\max}$). Cette approche est aujourd'hui facilitée en cyclisme par le développement d'appareils de mesure de la puissance mécanique développée, que les athlètes peuvent adapter directement sur leurs propres machines (Bertucci *et al.*, 2005).

Ainsi, l'intensité d'exercice, les tensions musculaires et les signaux mécaniques associés constituent d'importants stimuli mécaniques dont les propriétés sont connues pour induire des adaptations structurelles et fonctionnelles impliquées dans la génération de forces musculaires externes (Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004).

II.1.3. TRIMPs et charge d'entraînement

L'intensité d'exercice n'est pas le seul déterminant de la charge d'entraînement imposée à l'athlète. En effet, celle-ci dépend également de la durée des exercices proposés et de la fréquence de leur répétition (Smith, 2003). Proposé dans les années 1980, le concept de TRIMP intègre ces trois notions dans un même paramètre à partir de l'équation suivante:

$$\text{TRIMP} = A \times B \times C$$

Où A représente la durée de l'exercice (en min); B correspond au % de FC de réserve ($\text{FC}_{\text{moyenne de l'exercice}} - \text{FC}_{\text{repos}} / (\text{FC}_{\text{max}} - \text{FC}_{\text{repos}})$) et C représente un coefficient ($0,64e^{1,92B}$) sensé tenir compte de l'élévation exponentielle de la lactatémie avec l'intensité d'exercice (Faria *et al.*, 2005).

Tel qu'il est proposé, le TRIMP prend en compte les notions de durée et d'intensité d'exercice, laquelle est basée sur des critères métaboliques. En effet, chez un individu donné, FC évolue de manière linéaire avec $\dot{V}O_2$ (Mortensen *et al.*, 2005). Le % de FC de réserve représente alors indirectement la puissance métabolique aérobie générée par l'athlète (Hiilloskorpi *et al.*, 2003). En multipliant l'intensité métabolique de l'exercice par sa durée, les TRIMPs procurent une information sur la quantité d'énergie générée par les métabolismes aérobie, pondérée par le coefficient C. Globalement, les TRIMPs permettent ainsi d'estimer les stimuli métaboliques induits par une séance ou un programme d'entraînement. Récemment, une simplification des TRIMPs a été proposée, remplaçant les facteurs B et C par un coefficient correspondant à la zone d'intensité utilisée: $1 < SV_1$; $SV_1 < 2 < SV_2$; $3 > SV_2$. Cette approche a été largement utilisée pour déterminer le niveau de stimulation métabolique imposé sur les athlètes dans des situations d'entraînement ou de compétition (Lucia *et al.*, 1999; Padilla *et al.*, 2000a; Padilla *et al.*, 2001; Lucia *et al.*, 2003; Esteve-Lanao *et al.*, 2005). Les plus difficiles étapes de montagne du tour de France ont ainsi été quantifiées et correspondent à environ 600 TRIMPs. La course complète, parcourue sur 3 semaines, génère près de 7300 TRIMPs (Lucia *et al.*, 2003). D'un point de vue purement théorique, les TRIMPs ne procurent pas directement d'informations sur les stimuli mécaniques générés par l'exercice, alors que chaque séance d'entraînement s'accompagne de stimulations métaboliques mais aussi mécaniques. Toutefois, dans la mesure où le coût énergétique de l'activité est connu, on pourrait imaginer faire correspondre une valeur de puissance mécanique externe développée ou de vitesse de course au % de FC de réserve utilisé initialement. Les TRIMPs "mécaniques" ainsi obtenus donneraient des informations sur la quantité d'énergie mécanique produite par l'athlète. Si aucun facteur C n'est utilisé, les TRIMPs "mécaniques" correspondent alors à la distance parcourue par l'athlète lors de la séance.

Comme nous venons de le voir à travers les TRIMPs, chaque séance et, par effet cumulatif, chaque programme d'entraînement, génère ses propres stimuli tant métaboliques que mécaniques. Ceux-ci font alors partie intégrante de la charge d'entraînement mais leurs rôles respectifs dans les adaptations musculaires et systémiques induites après entraînement chez l'homme n'est pas établi. En conséquence, leurs effets respectifs sur la performance ne sont pas clairement identifiés. Pour tenter d'apporter des éléments de réponse à ces questions, il est impératif de trouver des modèles d'entraînement permettant de distinguer et quantifier les stimuli métaboliques et mécaniques. Ici, l'utilisation des TRIMPs n'apporte pas toujours les informations nécessaires.

II.1.4. Stimuli métaboliques, stimuli mécaniques et limites des TRIMPs

Bien que les TRIMPs prennent en compte les paramètres essentiels de la charge d'entraînement (intensité, durée, fréquence), leur interprétation en terme de stimuli métaboliques et/ou mécaniques est basée sur le postulat que la puissance métabolique de l'exercice est un témoin fidèle des perturbations de l'homéostasie cellulaire et des signaux métaboliques sous-jacents. Ce postulat est vérifié pour les exercices dont l'intensité peut être correctement estimée à partir de la FC, dans tous les cas inférieure à FC_{max} ou $\dot{V}O_{2\max}$. Par contre, 2 situations principales apparaissent pour les lesquelles ce postulat n'est pas exact:

- 1) lorsque les perturbations de l'homéostasie cellulaire sont majorées par des facteurs environnementaux qui peuvent s'ajouter aux perturbations induites par l'exercice *per se*, c'est le cas en altitude.
- 2) lorsque la puissance mécanique externe développée par l'athlète est très supérieure à $p\dot{V}O_{2\max}$ lors d'exercices brefs. Dans ce cas, la FC n'est pas un témoin de la puissance métabolique de l'exercice, c'est le cas pour les exercices de musculation.

Ces deux approches peuvent alors être considérées comme 2 méthodes non pharmacologiques, permettant d'élargir les différences entre la puissance métabolique générée par les métabolismes aérobie et la puissance mécanique externe développée par l'athlète. Ainsi, les niveaux de stimuli métaboliques et mécaniques qui peuvent être atteints par ces méthodes sont supérieurs aux exercices aérobie classiques réalisés à des intensités inférieures à $\dot{V}O_{2\max}$. La manipulation spécifique des stimulations métaboliques et mécaniques que ces méthodes autorisent, pourrait procurer des informations importantes sur les contributions métaboliques et mécaniques dans les adaptations à l'entraînement et l'amélioration de la performance aérobie.

II.2. L'entraînement en altitude: vers un modèle de stimulation métabolique

L'intérêt porté à l'utilisation de l'altitude dans le cadre de la préparation des athlètes s'est développé dans les années 1960, en vue des 19^{ème} Jeux Olympiques qui se déroulèrent à Mexico (2,300m) en 1968 (Hornbein & Schoene, 2001). A cette époque, il fut rapidement observé que les systèmes cardiopulmonaire et musculaire s'adaptent à l'altitude et que ces adaptations améliorent le transport et l'utilisation de l'O₂, ainsi que l'utilisation des substrats énergétiques (Goddard, 1967). Ces effets étant proches des effets de l'entraînement *per se*, l'altitude couplée à l'entraînement, a très vite été considérée comme un moyen d'optimiser les adaptations à

l'entraînement dans le but d'améliorer la performance aérobie, non seulement en altitude mais également au niveau de la mer (Faulkner *et al.*, 1967; Daniels & Oldridge, 1970). Depuis, l'utilisation de l'altitude s'est popularisée comme une méthode de préparation permettant d'augmenter le niveau de stimulation métabolique imposé aux athlètes dans l'objectif d'améliorer la performance en plaine avec plus ou moins de succès. Parallèlement, des effets délétères des expositions prolongées à l'altitude ont également été décrits sur l'immunité, la qualité du sommeil ou la fonction musculaire (Green *et al.*, 1989; Hoppeler *et al.*, 1990; Desplanches *et al.*, 1996). En conséquence, différentes modalités d'utilisation de l'altitude se sont développées au cours des 40 dernières années, visant à réduire les temps d'exposition à l'altitude afin d'en minimiser les effets délétères (Roach & Kayser, 2001). Aujourd'hui, il semble établi que les meilleures modalités d'utilisation de l'altitude proposent d'alterner les expositions à l'altitude avec des périodes en normoxie (Fulco *et al.*, 2000).

II.2.1. Principe d'utilisation de l'altitude

La principale caractéristique physique de l'altitude en terme de stimulation métabolique, est une diminution de la pression partielle de l'O₂ (PO₂), décrite par la relation suivante:

$$PO_2 \text{ (mmHg)} = FO_2 \text{ (\%)} \times (\text{Pression barométrique (mmHg)} - 47)$$

La FO₂ (fraction d'O₂ dans l'air ambiant) reste relativement constante (20,9%). Par contre, la pression barométrique diminue fortement à mesure que l'altitude augmente, passant de 760 mmHg en moyenne au niveau de la mer, jusqu'à environ 251-253 mmHg (West, 1999), au sommet de l'Everest (8850m). 47 représente la pression partielle de vapeur d'eau qui reste constante avec l'altitude. En conséquence, la plage des PO₂ "physiologiques" que l'homme peut rencontrer en altitude, varie entre 150 mmHg au niveau de la mer et seulement 43mmHg sur le toit du monde (West, 1999). Puisque la PO₂ donne une indication de la force de pénétration de l'O₂ dans l'organisme, l'altitude, en baissant la PO₂, rend l'O₂ moins disponible pour participer aux échanges gazeux. La diminution de la PO₂ en altitude constitue alors une stimulation extérieure importante pour les métabolismes énergétiques, notamment aérobies. Pour certains auteurs, le principal défi imposé à l'organisme en altitude est de maintenir un environnement et une homéostasie cellulaires adéquats pour le bon fonctionnement des métabolismes aérobies, malgré la diminution de la disponibilité en oxygène dans l'atmosphère (Hochachka *et al.*, 1983).

Afin de s'affranchir des problèmes pratiques rencontrés par l'utilisation de l'altitude (accessibilité, transport, coût, etc...) des méthodes artificielles se sont développées pour simuler

les conditions de PO₂ présentes en altitude. Ces méthodes proposent de moduler soit la FO₂ dans l'air inspiré (FiO₂) par les sujets (hypoxie normobare), soit la pression barométrique de l'environnement direct dans lequel ils évoluent (hypoxie hypobare). Concrètement, l'hypoxie normobare nécessite de remplacer une partie de l'O₂ présent dans l'air ambiant par un gaz inerte qui ne participe pas aux échanges gazeux (ex: azote), faisant ainsi baisser la FiO₂. L'hypoxie hypobare, par contre, impose une diminution contrôlée de la pression barométrique dans un espace étanche. Actuellement, ces 2 méthodes se sont largement démocratisées pour "amener la montagne aux athlètes" (caissons, chambres d'hôtel, chalets entiers!!) (Rusko, 1996).

A l'image des durées d'exercice qui sont très dépendantes de l'intensité (cf chapitre I), les niveaux d'altitude utilisables chez l'athlète sont également étroitement liés à la durée d'exposition, au risque de voir se développer des effets délétères si l'exposition est trop intense et/ou trop prolongée (Cerretelli & Hoppeler, 1996). Ainsi, les effets délétères sur le tissu musculaire d'une exposition à l'altitude supérieure à 3000m pendant plusieurs semaines sont bien documentés et touchent notamment les structures impliquées dans l'utilisation de l'O₂, incluant une diminution des capacités oxydatives et une atrophie musculaire (Green *et al.*, 1989; Hoppeler *et al.*, 1990; Desplanches *et al.*, 1996). Les mécanismes à l'origine de ces altérations ne sont pas élucidés mais pourraient résulter d'une atteinte de la synthèse protéique consécutive à la baisse d'activité physique générée par la vie en altitude (Hoppeler & Vogt, 2001). Dans ce contexte, afin de profiter de la stimulation métabolique générée par l'altitude et d'en majorer les effets bénéfiques, différentes modalités d'utilisation de l'altitude se sont développées, visant à réduire les temps d'exposition.

II.2.2. Les modalités d'utilisation

Historiquement, la possibilité selon laquelle l'exposition à l'altitude pouvait constituer un stimulus métabolique efficace pour induire des adaptations musculaires structurales et fonctionnelles chez l'homme apparaît en 1962 avec les travaux de Reynafarje et al. (Reynafarje, 1962). Leurs résultats reposaient sur l'observation des populations résidant de manière permanente dans les hauts plateaux des Andes, dont les muscles squelettiques présentaient une plus grande quantité de myoglobine et des activités enzymatiques oxydatives supérieures aux populations vivant au niveau de la mer. Bien que ces résultats intéressants aient été par la suite attribués à des différences d'activité physique plutôt qu'aux effets de l'altitude *per se* (Hoppeler & Vogt, 2001), les premières approches de l'utilisation de l'altitude avec les athlètes ont consisté à organiser des stages d'entraînement où les athlètes résidaient et s'entraînaient de manière

permanente en altitude. Cette modalité d'utilisation de l'altitude continue aujourd'hui d'être largement utilisée dans les milieux sportifs. Pourtant, les études qui en ont mesuré les effets démontrent une grande disparité des résultats sur la performance aérobie. Parmi les facteurs qui interviennent dans cette disparité de résultats apparaît une grande diversité des protocoles utilisés, notamment en termes d'exposition à l'altitude (durée/altitude) et en termes d'intensité d'entraînement. De plus, les études qui rapportent des améliorations de $\dot{V}O_{2\max}$ ou de performance au niveau de la mer sont le plus souvent réalisées sans groupe contrôle et/ou chez le sujet sédentaire ou peu entraîné (Faulkner *et al.*, 1967; Daniels & Oldridge, 1970; Mizuno *et al.*, 1990). Peu d'études ont été menées chez des athlètes avec groupe contrôle, mais celles-ci sont globalement en faveur d'une absence d'effets bénéfiques de l'exposition permanente à l'altitude (Adams *et al.*, 1975; Svedenhag *et al.*, 1991; Bailey *et al.*, 1998). Aujourd'hui, le développement des méthodes de simulation artificielle de l'altitude facilite l'étude des effets d'expositions limitées à l'altitude, de manière passive ou associée à l'exercice. Ceux-ci démontrent des effets plus convaincants sur la performance aérobie et/ou les facteurs de la performance.

II.2.2.2. Expositions passives à l'altitude

Initiées par Levine et Stray-Gundersen au début des années 1990, ces méthodes proposent des expositions limitées à l'altitude. Le temps restant est alors utilisé pour l'entraînement des athlètes, lequel est réalisé dans des conditions proches de la normoxie (Levine & Stray-Gundersen, 1992).

Une première modalité d'exposition passive à l'altitude, encore appelée Living-High Training-Low (LHTL) consiste à limiter les périodes d'exposition à l'altitude à 12-16h/jour, incluant la nuit. En utilisant 4 semaines de résidence à 2500m d'altitude et en réalisant les entraînements à 1250m, cette méthode a démontré son efficacité sur la performance aérobie pour les épreuves de 3000 et 5000m chez l'athlète ($62-74 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), avec des améliorations de l'ordre de 1,1 et 1,3 % respectivement (Levine & Stray-Gundersen, 1997; Stray-Gundersen *et al.*, 2001). Ces gains sont associés à une amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$ proche de 3-4% laquelle est principalement attribuée à une augmentation des capacités de transport sanguin de l' O_2 puisque la concentration sanguine d'hémoglobine et la masse des globules rouges sont augmentées d'environ 10%. Ainsi, les effets bénéfiques du LHTL semblent largement médiés par une activation de l'hématopoïèse, laquelle est sous le contrôle de l'hématopoïétine (EPO) sécrétée par les reins de manière PO_2 tissulaire dépendante (Richalet & Henry, 2003). Les approches de type LHTL permettent de doubler la concentration sanguine d'EPO, après une seule nuit d'exposition à l'altitude (Stray-Gundersen *et al.*, 2001), transformant ainsi les stimuli métaboliques générés

par l'hypoxie tissulaire, en réponse adaptative de la composition sanguine, visant à augmenter les capacités d'apport d'O₂ aux territoires actifs.

Plus récemment, des modifications ont été apportées au LHTL pour tenter de minimiser les aspects contraignants liés aux longues, bien que limitées, périodes d'exposition à l'altitude. Ainsi, les expositions à l'altitude ont été réduites à quelques heures par jour (8-10 h/j) à des altitudes comparables, situées entre 2500 et 3000 m sur des périodes de 2-3 semaines (Ashenden *et al.*, 1999a; Ashenden *et al.*, 1999b). Il semble que la stimulation générée par l'hypoxie avec ces méthodes soit trop faible pour induire une amélioration des capacités de transport sanguin de l'O₂. Par contre, une amélioration de l'économie de course ou de pédalage a été rapportée de manière répétée après ce type d'exposition (Gore *et al.*, 2001; Saunders *et al.*, 2004b) et ces effets semblent persister pour des durées d'exposition limitées à 90 min/j lorsque l'altitude est élevée à 4500 m (Katayama *et al.*, 2003; Katayama *et al.*, 2004). Les mécanismes à l'origine de ces observations demeurent incertains mais les hypothèses avancées concernent: 1) une diminution du nombre de molécules d'ATP nécessaires pour développer un niveau de puissance mécanique donné; 2) une augmentation du nombre de molécules d'ATP générées par l'oxydation d'une molécule d'O₂; 3) une combinaison de ces 2 mécanismes (Green *et al.*, 2000). Récemment, une meilleure contribution glycolytique à la fourniture énergétique, tant aérobie qu'anaérobie a été écartée, tout comme un rôle déterminant des adaptations systémiques (\dot{V}_E et FC) (Saunders *et al.*, 2004b). Les travaux futurs pour élucider les mécanismes responsables de l'amélioration de l'économie de course ou de pédalage semblent se diriger vers le coût en ATP des processus d'excitation-contraction musculaire, tels que les échanges d'ions Na⁺/K⁺ à travers le sarcolemme et les tubules T, le pompage des ions Ca²⁺ dans le réticulum sarcoplasmique et/ou le cycle de formation des ponts actine/myosine (Green *et al.*, 2000). Pour l'heure, ces pistes restent hypothétiques.

Quoi qu'il en soit, les adaptations observées après expositions passives à l'altitude induisent des adaptations qui touchent largement les aspects systémiques (meilleur apport d'O₂) lorsque les durées d'exposition sont longues (>12-16 h/j), contribuant à améliorer les niveaux maximaux de puissance métabolique générés par les métabolismes aérobie. Toutefois, l'entraînement en endurance n'est pas connu pour augmenter la concentration d'hémoglobine, et les adaptations induites par les expositions prolongées à l'altitude, bien que complémentaires, sont différentes et non spécifiques de celles induites par l'entraînement *per se*. A l'inverse, lorsque les durées d'exposition se raccourcissent (<8-10 h/j), les adaptations qui apparaissent semblent plutôt périphériques et se rapprochent des effets de l'entraînement, contribuant à améliorer les niveaux de puissance mécanique développés via une meilleure efficacité des processus d'excitation/contraction. Ces observations suggèrent que les stimuli métaboliques

générés par l'exposition limitée à l'altitude passive pourraient modifier la structure et/ou la fonction musculaire. Les méthodes d'exposition actives à l'altitude s'inscrivent dans cette logique, dans l'objectif de maximiser les adaptations musculaires à l'entraînement, lorsque l'exercice est couplé à l'altitude.

II.2.2.4. Les expositions actives à l'altitude

L'idée de coupler spécifiquement l'exercice et l'altitude (Living-Low training-High, LLTH) dans le but de majorer les stimuli métaboliques générés par l'entraînement remonte à la fin des années 1980 (Terrados *et al.*, 1988). En effet, il est aujourd'hui bien établi que l'exercice en normoxie s'accompagne d'une hypoxie tissulaire, et la PO_2 intracellulaire est rapidement diminuée de moitié au début d'un exercice (Richardson *et al.*, 1995; Hoppeler *et al.*, 2003). De manière similaire, l'exposition aiguë à l'altitude au repos diminue le contenu artériel en O_2 et les gradients de diffusion, conduisant à une réduction de la PO_2 tissulaire (Richardson *et al.*, 1995). En conséquence, la combinaison des 2 types de stimuli (exercice+altitude) permet d'accentuer la désaturation de la myoglobine à l'exercice et de majorer les signaux métaboliques qui l'accompagnent (Richardson *et al.*, 1995; Richardson *et al.*, 1999). Ainsi, les concentrations cellulaires en AMP, ADP, Pi, La (Haseler *et al.*, 1998; Richardson *et al.*, 1998) et NADH (Katz & Sahlin, 1987) sont plus élevées lorsqu'un même exercice est réalisé en altitude qu'en normoxie. De plus, dans les mêmes conditions, le pH musculaire et la concentration musculaire relative en PCr sont abaissés (Hogan *et al.*, 1999). Toutes ces informations indiquent que les modifications du potentiel redox cellulaire qui accompagnent l'exercice sont profondément majorées lorsque l'exercice est réalisé à même intensité absolue en condition d'hypoxie. En d'autres termes, même si les débits de production d'ATP sont équivalents et la $\dot{V}O_2$ similaire, les perturbations de l'homéostasie cellulaire sont plus marquées en altitude qu'en normoxie (Wilson *et al.*, 1977).

Lorsque les modifications du milieu cellulaire sont comparées à même intensité relative d'exercice (et non plus absolue), les différences s'amenuisent mais ne s'estompent pas. Ainsi, la saturation de la myoglobine, la PO_2 intracellulaire et le pH musculaire sont plus faibles à 90% de $\dot{V}O_{2\max}$ en hypoxie vs. 90% de $\dot{V}O_{2\max}$ en normoxie (Richardson *et al.*, 1995; Richardson *et al.*, 1998). Peu d'informations sont actuellement disponibles sur des données plus précises relatives aux perturbations métaboliques cellulaires à même intensité relative. Toutefois, il paraît raisonnable de considérer que l'exercice réalisé en altitude majore les stimuli métaboliques observés lorsque l'exercice est réalisé en normoxie, quelles que soient les références, absolues ou relatives, utilisées pour qualifier l'intensité de l'exercice. Les adaptations physiologiques induites

par l'exposition active à l'altitude sont également plus spécifiques de l'exercice que les adaptations à l'exposition passive, et leurs mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents mieux connus. Toutefois, leur connaissance reste encore parcellaire (Däpp *et al.*, 2005).

II.2.3. Vivre en bas – S'entraîner en haut ("Living-Low Training-High")

II.2.3.1. Effets sur les facteurs de la performance aérobie

Plus ancienne que le LHTL, les effets de la méthode Living-Low Training-High (LLTH) sur la performance restent pourtant encore largement inexplorés, aucune étude n'ayant rapporté les modifications directes de performance, mesurées sur le terrain, après LLTH. Seule la sensibilité de quelques facteurs de la performance aérobie est connue chez les athlètes ou les sujets actifs.

Il est aujourd'hui bien accepté que les approches de type LLTH permettent d'améliorer la capacité à l'exercice en altitude. Chez des sujets actifs ($\dot{V}O_{2\max} = 50 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), 6 semaines d'entraînement type LLTH à raison de 5 séances de 30 min/semaine à 80% $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique et réalisées à 3850m, augmentent significativement $\dot{V}O_{2\max}$ (7-11%) et la puissance maximale atteinte lors d'un test d'effort progressif (Pmax) (16-17%) (Desplanches *et al.*, 1993; Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Chez des cyclistes professionnels ($\dot{V}O_{2\max} = 70 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), 4 semaines d'entraînement à raison de 5 séances de 105-150 min/semaine réalisées à 2300 m, et consistant en des exercices compris entre 65 et 125% $\dot{V}O_{2\max}$ normoxique, augmentent la capacité d'exercice en altitude de 33% (travail mécanique total réalisé lors d'une épreuve d'effort progressive, Wtot) (Terrados *et al.*, 1988). Chez des triathlètes de haut niveau ($\dot{V}O_{2\max} = 70 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), 3 semaines d'entraînement en LLTH à raison de 3 séances de 60min/semaine réalisées entre 60 et 85% de Pmax à 4000 m améliorent $\dot{V}O_{2\max}$ en altitude de 4% (Vallier *et al.*, 1996). Curieusement, les avantages procurés par le LLTH en altitude ne se répercutent pas significativement sur la capacité de performance mesurée en normoxie, où LLTH n'améliore pas plus $\dot{V}O_{2\max}$ ou Pmax que le même entraînement réalisé en normoxie (Terrados *et al.*, 1988; Desplanches *et al.*, 1993; Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001).

L'effet des approches de type LLTH sur la capacité de performance en normoxie est beaucoup plus controversé. Chez des athlètes ($\dot{V}O_{2\max} > 65 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), certaines équipes rapportent un effet bénéfique du LLTH contre groupe contrôle sur Pmax, $\dot{V}O_{2\max}$ ou Wtot (Terrados *et al.*, 1988; Mizuno *et al.*, 1990; Meeuwsen *et al.*, 2001; Hendriksen & Meeuwsen, 2003), pas toujours observé (Truijens *et al.*, 2003). Chez le sujet sédentaire ou actif ($\dot{V}O_{2\max} < 50$

mlO₂·kg⁻¹·min⁻¹), le même constat apparaît avec des études montrant un effet bénéfique (Roskamm *et al.*, 1969; Terrados *et al.*, 1990; Bailey *et al.*, 2001), loin d'être observé dans tous les travaux (Benoit *et al.*, 1992; Levine *et al.*, 1992; Desplanches *et al.*, 1993; Emonson *et al.*, 1997; Melissa *et al.*, 1997; Geiser *et al.*, 2001; Masuda *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001; Messonnier *et al.*, 2004). De manière générale, quel que soit le type de population étudiée, les effets des méthodes LLTH sur d'autres facteurs de la performance tels que les seuils ventilatoires sont peu décrits, mais semblent limités et non significatifs (Terrados *et al.*, 1988). Dans le même ordre d'idée, la sensibilité du coût énergétique et des cinétiques d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ au départ de l'exercice après entraînement LLTH n'ont jamais été spécifiquement rapportées.

Les mécanismes sous-jacents des adaptations rapportées pour les facteurs de la performance aérobie après LLTH ont été analysés, et semblent plus musculaires que liés à une amélioration des capacités de transport sanguin de l'O₂.

II.2.3.2. Capacités de transport sanguin de l'O₂

A l'inverse des méthodes LHTL, les approches de type LLTH n'induisent pas de modifications des capacités de transport sanguin de l'O₂. Sur ce point, les études semblent unanimes et démontrent que ni l'hématocrite, ni l'hémoglobine ne sont augmentés après LLTH tant chez l'athlète (Terrados *et al.*, 1988; Meeuwsen *et al.*, 2001; Hendriksen & Meeuwsen, 2003; Truijens *et al.*, 2003) que chez les sujets sédentaires ou actifs (Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Cette observation apparaît quelles que soient l'altitude (2300 et 4000 m) et la durée (20 min à 2h30) utilisées pour les séances, et suggère que d'autres adaptations, notamment musculaires, sont à l'origine des améliorations de la capacité à l'exercice après LLTH.

II.2.3.3. Adaptations musculaires

Chez des cyclistes entraînés, 3 semaines de LLTH permettent d'augmenter les niveaux de désoxygénation musculaire à l'exercice et accélèrent la vitesse de réoxygénation en récupération (Kime *et al.*, 2003). Un rapport PCr/(PCr+Pi), un pH plus élevé et un rétablissement plus rapide de la concentration cellulaire en PCr ont également été observés chez des skieurs de fond après seulement 4 jours de LLTH (Kuno *et al.*, 1994). De manière similaire, une diminution de la [La] et une augmentation du pouvoir tampon musculaire apparaissent aussi chez des skieurs de fond après 2 semaines de LLTH (Mizuno *et al.*, 1990). Toutefois, ces 2 dernières études n'ayant pas intégré de groupe contrôle, l'effet spécifique de l'entraînement en altitude sur le métabolisme cellulaire reste à confirmer. Par contre, ces observations sont en accord avec l'effet théorique

d'une majoration des stimuli métaboliques générés par l'exercice, lorsque celui-ci est réalisé en altitude, engendrant des réponses adaptatives visant à améliorer les capacités de maintien de l'homéostasie cellulaire. Dans le même ordre d'idée, certaines études rapportent une élévation de l'activité des enzymes oxydatifs tels que la citrate synthase après LLTH (Terrados *et al.*, 1990; Melissa *et al.*, 1997). Toutefois, ces résultats ont été obtenus avec un modèle d'exercice mono-jambe sur ergocycle et leur application à l'exercice classique n'est pas confirmée (Terrados *et al.*, 1988; Mizuno *et al.*, 1990; Masuda *et al.*, 2001). La même incertitude demeure concernant l'activité des enzymes impliqués dans les métabolismes anaérobies, tels que la phosphofructokinase ou la lactate déshydrogénase (Terrados *et al.*, 1988; Vogt *et al.*, 2001).

Au niveau structural, 4-6 semaines d'entraînement LLTH induisent une augmentation de la capillarisation musculaire. Si cette possibilité reste à confirmer chez les athlètes à cause de l'absence de groupe contrôle (Mizuno *et al.*, 1990) ou d'une limite de significativité (Terrados *et al.*, 1988), elle est relativement bien établie chez les sujets actifs, démontrant des améliorations de 13% du rapport capillaires/fibres musculaires (Desplanches *et al.*, 1993) ou de 17-19% de la densité de longueur capillaire (Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Ces adaptations capillaires sont considérées comme des adaptations structurales permettant d'augmenter la surface d'échange entre les capillaires et les fibres musculaires, optimisant ainsi le transfert de l'O₂ du compartiment sanguin au compartiment intracellulaire. Au niveau cellulaire, la densité mitochondriale est augmentée (environ 55-59%) après LLTH et il semble que les mitochondries sous-sarcolemmales soient proportionnellement plus augmentées (100-130%) que leurs homologues interfibrillaires (40%) (Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Cette adaptation "compartimentée" permettrait de minimiser la distance de diffusion intracellulaire de l'O₂ avant son utilisation, optimisant ainsi la production aérobie d'énergie métabolique.

II.2.3.4. Quelles voies de signalisation des stimuli métaboliques générés par LLTH ?

La compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine des adaptations structurelles et fonctionnelles générées par l'entraînement LLTH au niveau musculaire et systémique, reste encore incomplète (Däpp *et al.*, 2005). Néanmoins, de nombreuses études s'accordent sur le rôle déterminant joué par un facteur de transcription, le facteur inductible par l'hypoxie 1 (HIF 1), exprimé dans de nombreuses cellules de mammifères, et notamment les cellules musculaires squelettiques (Wiener *et al.*, 1996). En conditions de normoxie, ce facteur est rapidement dégradé et sa durée de vie est une des plus courtes observées pour les protéines de l'organisme (Jaakkola *et al.*, 2001). Par contre, en condition d'hypoxie, HIF 1 est surexprimé et stabilisé,

induisant l'activation d'un grand nombre de gènes, notamment des gènes impliqués dans la glycolyse (phosphofrucoquinase ou PFK, transporteurs membranaires de glucose), l'angiogenèse (facteur de croissance vasculaire endothélial, VEGF) et le maintien de l'homéostasie cellulaire (myoglobine) (Wenger & Gassmann, 1997). Une étude chez le sujet actif a ainsi démontré que l'association exercice/altitude (3800m) pendant 6 semaines à raison de 3 séances de 30 min/semaine à 50% $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique, augmente la quantité d'ARNm codant pour HIF 1 (58-80%). Cette réponse de HIF 1 est associée à une augmentation importante de la quantité d'ARNm codant pour des enzymes oxydatifs tels que la succinate déshydrogénase (42%) et la cytochrome oxidase 4 (35%). Si les séances sont plus intenses (65% $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique), d'autres ARNm voient leur quantité augmenter de manière plus importante que le même entraînement réalisé en normoxie. Ainsi, les ARNm codant pour la myoglobine (52%) et le VEGF (72%) s'élèvent, alors qu'ils restent inchangés si les séances sont réalisées en normoxie (Vogt *et al.*, 2001). Globalement, ces résultats suggèrent que les stimuli métaboliques générés par l'entraînement LLTH sont plus importants (ou plus efficaces) lorsque l'altitude est appliquée sur des séances d'entraînement intenses ($>$ ou égale à 65% $\dot{V}O_{2\max}$), susceptibles d'induire une hypoxie tissulaire plus marquée (Richardson *et al.*, 1995; Grassi *et al.*, 1999; Shibuya & Tanaka, 2003). Cette hypothèse semble confirmée par la quantification de l'ARNm codant pour la protéine du choc thermique 70 (heat shock protein 70, HSP 70), laquelle est considérée comme un indicateur du niveau de stress subi par les cellules (Kilgore *et al.*, 1998). En effet, celle-ci augmente 2 fois plus lorsque l'intensité des séances hypoxiques est élevée (65% $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique) vs. modérée (50% $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique). Cette observation indique que l'augmentation de l'intensité de l'exercice sur un organisme en situation d'hypoxie environnementale agit comme un stimulus métabolique supplémentaire, pouvant potentiellement majorer les réponses adaptatives. Toutefois, cette hypothèse reste pour l'heure spéculative car aucune étude n'a montré la concrétisation protéique des modifications observées au niveau des ARNm. En conséquence, l'efficacité des programmes LLTH sur la capacité de performance en normoxie reste débattue et ces incertitudes sont principalement liées à la gestion de la charge d'entraînement en altitude.

II.2.3.5. Une difficile gestion de la charge d'entraînement

Un des principaux problèmes rencontrés lors de l'entraînement en altitude est la diminution de la charge de travail habituelle des athlètes, et plus spécifiquement de l'intensité des séances (Böning, 1997; Levine, 2002). En effet, les niveaux de puissance métabolique qui peuvent être générés par les métabolismes aérobie se réduisent à mesure que l'altitude augmente, limitant ainsi $\dot{V}O_{2\max}$ (Adams & Welch, 1980). Les mécanismes responsables de cette limitation métabolique aux altitudes modérées (inférieures à 4000 m) apparaissent principalement liés à la baisse de la PO_2 dans l'air ambiant, réduisant la saturation et le contenu artériels en O_2 (CaO_2) (Hughes *et al.*, 1968). Lorsque l'altitude est plus élevée, d'autres facteurs limitatifs cardiaques (diminution du débit cardiaque) ou pulmonaires (détérioration de la diffusion alvéolo-capillaire) s'ajoutent à la baisse de CaO_2 . A 5300m, il a été proposé que ces 3 facteurs contribuent tout autant à limiter $\dot{V}O_{2\max}$ (Calbet *et al.*, 2003). Quoi qu'il en soit, les athlètes sont tout particulièrement sensibles à la baisse de la PO_2 ambiante et voient leur $\dot{V}O_{2\max}$ diminuer significativement dès 580m d'altitude (Gore *et al.*, 1997). En conséquence, les puissances métaboliques et mécaniques (maximales mais aussi sous-maximales pour un temps donné) qui peuvent être développées en altitude, sont plus faibles qu'au niveau de la mer. Deux solutions sont alors disponibles pour les athlètes afin que les séances d'entraînement restent tolérables: 1) garder les mêmes intensités absolues d'exercice (même $\dot{V}O_2$) mais diminuer les durées; ou 2) garder les mêmes intensités relatives d'exercice (même % $\dot{V}O_{2\max}$) et conserver les mêmes durées. Dans tous les cas, les stimuli métaboliques et mécaniques liés à l'exercice *per se* sont alors diminués lors des séances en altitude. Même si l'ajout de l'altitude permet de maintenir, voire d'augmenter les stimuli métaboliques totaux, il n'exerce aucun effet sur les stimuli mécaniques, lesquels restent plus faibles en altitude que lors de l'entraînement habituel des athlètes au niveau de la mer. Or, les stimuli mécaniques générés par l'exercice sont considérés comme des éléments importants des réponses adaptatives à l'entraînement (Hickson *et al.*, 1982; McConell *et al.*, 1993; Fluck & Hoppeler, 2003) et leur réduction contribue à limiter les effets bénéfiques de l'entraînement sur la performance (Levine & Stray-Gundersen, 1997; Levine *et al.*, 2005).

Pour tenter de s'affranchir de ce problème "mécanique" et identifier l'impact d'une augmentation sélective des stimuli métaboliques sur la capacité de performance aérobie tout en conservant intacts les stimuli mécaniques, les puissances métaboliques et mécaniques développées lors de l'entraînement doivent être relativement faibles (et donc tolérables aussi bien en altitude qu'en plaine). Cela permet de conserver des stimuli mécaniques identiques en plaine vs. altitude tout en générant des stimuli métaboliques plus importants dans le groupe s'entraînant en altitude. Les séances réalisées en plaine restent alors tolérables en altitude malgré la baisse de

la PO₂ ambiante (Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Or, l'entraînement des athlètes nécessite l'utilisation d'exercices de hautes intensités pour développer ou maintenir $\dot{V}O_{2\max}$ et améliorer les capacités à l'exercice maximal (Wenger & Bell, 1986). L'utilisation de telles intensités d'exercice en altitude conduirait les athlètes au surentraînement, voire à la blessure, et n'est donc pas compatible avec leurs "spécificités physiologiques". D'autres alternatives doivent donc être trouvées afin de minimiser les perturbations imposées à la charge d'entraînement habituelle des athlètes sous LLTH, notamment limiter la réduction des stimuli mécaniques. Dans ce contexte, il a été proposé récemment d'adapter les procédures LLTH afin de ne réaliser en altitude que quelques unes des séances habituelles de l'entraînement des athlètes (Ventura *et al.*, 2003).

II.2.4. Vers l'entraînement en altitude intermittente

II.2.4.1. Principe d'utilisation

Les effets d'un programme d'entraînement chez l'athlète dépendent largement des stimuli tant métaboliques que mécaniques, générés par les séances (Hickson *et al.*, 1982; McConell *et al.*, 1993). Afin de majorer les stimuli métaboliques tout en limitant la réduction des stimuli mécaniques, potentiellement pénalisante en altitude, une approche récente consiste à intégrer un nombre réduit de séances réalisées totalement (Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003) en altitude, au sein des séances d'entraînement habituelles des athlètes réalisées en normoxie, on parle alors d'entraînement en altitude intermittente. Dans ce contexte, les expositions à l'altitude sont réduites à des périodes relativement courtes (<2 h). Dès lors, le niveau d'altitude ainsi que les durées/intensités des séances réalisées en altitude pourraient représenter des éléments déterminants des effets de ce type de programme.

II.2.4.2. Résultats observés et perspectives

Peu d'études ont rapporté les effets de l'entraînement en altitude intermittente sur la performance aérobie et les adaptations systémiques et musculaires sous-jacentes. Actuellement, les études qui ont minimisé les perturbations des stimuli mécaniques en utilisant l'altitude dans l'entraînement des athlètes observent des résultats très contrastés, nuls (Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003) ou potentiellement positifs pour la performance en normoxie (Terrados *et al.*, 1988; Terrados, 1992). Ainsi, chez des cyclistes entraînés ($\dot{V}O_{2\max} = 62 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$),

l'inclusion de séances en altitude (3200 m), 3 fois/semaine (30 min à 75% P_{max} hypoxique), dans l'entraînement habituel des athlètes, n'a aucun effet sur la capacité de performance aérobie, ni en altitude, ni au niveau de la mer, après 6 semaines. Aucune amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$, P_{max} ou encore de la puissance mécanique moyenne développée sur 10 min d'effort maximal n'a été observée (Ventura *et al.*, 2003). Chez des nageurs, l'inclusion d'exercices maximaux de 30-60 sec à raison de 3 séances/semaine à 2500 m dans l'entraînement habituel pendant 5 semaines, n'améliore ni $\dot{V}O_{2\max}$, ni la performance sur une épreuve de 400 m (Truijens *et al.*, 2003). Bien qu'efficaces pour ne pas perturber les stimuli mécaniques habituels de l'entraînement des athlètes, les exercices en altitude proposés dans ces 2 études ne sollicitent les métabolismes aérobie qu'à des niveaux inférieurs à 80% de $\dot{V}O_{2\max}$ déterminée en normoxie (Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003). Or il semble que pour qu'un effet positif de l'entraînement en altitude apparaisse, les intensités d'exercice doivent, au moins transitoirement, être supérieures à 80 % de la $\dot{V}O_{2\max}$ déterminée en normoxie (Terrados *et al.*, 1988) tout en maintenant les stimuli mécaniques habituels des athlètes (Terrados, 1992).

Dans ce contexte, les conditions optimales de la mise en œuvre de l'entraînement en altitude intermittente restent largement à préciser afin de tirer le meilleur parti de la stimulation métabolique additionnelle générée par l'altitude à l'exercice. Il semble que l'intensité, la durée et la fréquence des séances en altitude soient déterminantes pour engendrer un effet positif sur la capacité de performance aérobie. Un des aspects de mon travail de thèse s'inscrit dans cette logique et propose une adaptation de l'entraînement en altitude intermittente chez l'athlète dans le but d'améliorer la capacité de performance aérobie.

II.3. Entraînement aérobie couplé au travail de la force musculaire: vers un modèle de stimulation mécanique

Contrairement à l'entraînement en altitude, l'intérêt pour le travail spécifique de la force musculaire dans le but d'améliorer la performance aérobie est relativement récent et les premières études consacrées à cet aspect datent des années 1980 (Hickson, 1980; Hickson *et al.*, 1980; Dudley & Djamil, 1985; Hickson *et al.*, 1988). D'un point de vue théorique, les 2 types d'entraînement apparaissent totalement opposés (Hickson *et al.*, 1988). En effet, l'entraînement en endurance se caractérise par des exercices visant à développer principalement les

métabolismes aérobie pour lesquels les athlètes utilisent classiquement des intensités (métaboliques et mécaniques) inférieures ou égales à $\dot{V}O_2 \text{ max}$ (ou $p \dot{V}O_2 \text{ max}$) (Billat *et al.*, 1999; Billat *et al.*, 2001b). Ce type d'exercice requiert des niveaux de force (et de stimulation mécanique) éloignés (30-40%) des capacités maximales de force musculaire (Sargeant *et al.*, 1981; Baron, 2001). Au contraire, l'entraînement spécifique de la force musculaire maximale implique l'utilisation des niveaux de force (et de stimuli mécaniques) élevés voire maximaux, impliquant nécessairement des périodes d'exercice très courtes, insuffisantes pour activer efficacement les métabolismes aérobie (Fry, 2004). En conséquence, les effets respectifs des 2 types d'entraînement sur le muscle squelettique peuvent être très divergents (Nelson *et al.*, 1990; Bishop *et al.*, 1999), et l'entraînement de la force musculaire pourrait potentiellement altérer la performance aérobie. En effet, il peut engendrer une hypertrophie des fibres musculaires, associée à une augmentation des protéines contractiles, (phénomène étroitement lié à l'élévation des capacités de force maximale) (Sale *et al.*, 1990), mais aussi une diminution de la densité mitochondriale et de l'activité des enzymes oxydatifs (Nelson *et al.*, 1990; Sale *et al.*, 1990). L'ensemble de ces observations peut affecter la performance en endurance en limitant les puissances métaboliques générées par les métabolismes aérobie. A l'inverse, l'entraînement en endurance est connu pour améliorer la densité mitochondriale, l'activité des enzymes oxydatifs, la capillarisation et les niveaux de puissance métabolique générés par les métabolismes aérobie (Holloszy & Coyle, 1984; Hoppeler *et al.*, 1985; Hoppeler *et al.*, 1991). A partir de ce constat, l'intégration d'un travail spécifique de la force musculaire dans un programme d'entraînement dédié à l'amélioration de la performance en endurance pourrait créer des "interférences" dans les stimuli métaboliques et les stimuli mécaniques générés, empêchant le muscle de s'adapter aussi efficacement que lorsque les 2 types d'entraînement sont menés séparément (Docherty & Sporer, 2000).

Toutefois, l'amélioration de la force musculaire après entraînement spécifique est un phénomène complexe pouvant résulter d'adaptations diverses telles qu'une meilleure commande motrice (ex: meilleure synchronisation des unités motrices, amélioration de leur fréquence de décharge) (Milner-Brown *et al.*, 1975; Leong *et al.*, 1999), une hypertrophie (Alway *et al.*, 1989; McCall *et al.*, 1996), une modification de l'orientation des fibres musculaires (Kawakami *et al.*, 1993) ou une modification de la concentration de métabolites musculaires (Rooney *et al.*, 1994; Smith & Rutherford, 1995). Ainsi, en fonction des multiples variables manipulées pour constituer les séances de travail de force (Tan, 1999), il est possible d'obtenir des gains de force sans induire d'hypertrophie (Kraemer *et al.*, 2002; Fry, 2004). Dans ce cas, l'intégration d'exercices de force dans l'entraînement des athlètes pourrait permettre d'augmenter les stimuli mécaniques générés par l'entraînement. Des études récentes, suggèrent que ce type d'approche

peut améliorer la capacité de performance aérobie (Tanaka & Swensen, 1998; Paavolainen *et al.*, 1999a; Paavolainen *et al.*, 1999b; Hoff *et al.*, 2002; Millet *et al.*, 2002).

II.3.1. Principe d'utilisation

Deux principaux constats sont à l'origine du recours au travail de la force musculaire chez les athlètes en endurance. D'une part, les niveaux de puissance mécanique ou de vitesse de course qu'ils doivent soutenir lors des compétitions, sont très élevés et variables, dépassant parfois largement $p \dot{V}O_{2\max}$ ou $v \dot{V}O_{2\max}$ (Jeukendrup & van Diemen, 1998; Padilla *et al.*, 2001; Achten & Jeukendrup, 2003; Faria *et al.*, 2005). Ces périodes intenses correspondent souvent aux moments cruciaux des épreuves qui départagent les meilleurs et déterminent l'issue des compétitions (Jeukendrup *et al.*, 2000). D'autre part, les athlètes des disciplines d'endurance se soumettent à des charges d'entraînement très élevées pouvant atteindre, par exemple, 35 000 km/an chez des cyclistes (Lucia *et al.*, 2002). Celles-ci sont principalement atteintes via des durées d'exercice importantes, alors que les périodes consacrées au travail à des intensités d'exercice élevées sont relativement limitées (Seiler & Kjerland, 2004; Esteve-Lanao *et al.*, 2005). Même si cette distribution des intensités d'entraînement semble impérative pour développer les qualités physiques nécessaires à la réussite dans leur activité (métabolismes aérobie, coût énergétique) (Noakes, 1991), elle pourrait altérer les capacités du système neuro-musculaire à développer rapidement des forces musculaires importantes (Ono *et al.*, 1976; Galy *et al.*, 2003) et diminuer la puissance musculaire maximale. Une étude récente réalisée chez des coureurs à pied entraînés ($\dot{V}O_{2\max} = 70 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) rapporte une détérioration des capacités de puissance maximale de contraction mesurées sur fibres musculaires isolées de gastrocnémus après 8 semaines d'entraînement en endurance (80-100 km/sem) (Harber *et al.*, 2004). Dans ce contexte, l'entraînement en force dans le but d'améliorer et/ou maintenir la fonction neuro-musculaire et les puissances musculaires maximales, peut exercer un effet bénéfique sur la performance aérobie.

Pour les exercices de force, l'intensité d'exercice est souvent exprimée en pourcentage de la charge maximale qu'un individu peut soulever une seule fois dans un mouvement volontaire (une répétition maximale, 1 RM). Ainsi, chez des sujets sédentaires, l'utilisation d'un faible pourcentage de 1 RM et de nombreuses répétitions dans un programme exclusif d'amélioration de la force musculaire permet d'améliorer la capacité de performance aérobie, mesurée par le temps d'épuisement sur ergocycle à 75% de $\dot{V}O_{2\max}$ (Marcinik *et al.*, 1991). Toutefois, les mécanismes sous-jacents sont proches voire similaires aux effets d'un entraînement en endurance

(amélioration des seuils ventilatoires). Chez les athlètes, ce type de travail en force (petites charges/nombreuses répétitions) est inefficace (Bell *et al.*, 1989), voire préjudiciable s'il est réalisé au détriment des séances en endurance (Hoff *et al.*, 1999). La tendance actuelle pour travailler la force de manière bénéfique chez les athlètes en endurance consiste à utiliser des exercices qui induisent des adaptations principalement nerveuses, et limitent l'hypertrophie, afin de ne pas pénaliser l'athlète qui doit "porter" ensuite son propre poids (Docherty & Sporer, 2000). Pour atteindre cet objectif, les exercices de force doivent être caractérisés par des intensités proches de 1 RM et/ou des grandes vitesses de mouvement (type "explosives") (Hoff & Almasbakk, 1995; Almasbakk & Hoff, 1996; Hakkinen *et al.*, 2003; Rhea *et al.*, 2003). A cette condition, de faibles améliorations de force maximale et/ou de sa vitesse de développement permettent d'obtenir des améliorations substantielles de la puissance musculaire maximale (Saltin, 1973), potentiellement bénéfiques pour la capacité de performance aérobie. En terme de stimulations, ce type d'approche permet d'augmenter les stimuli mécaniques, lesquels sont traditionnellement limités dans les programmes d'entraînement en endurance. En conséquence, les aspects mécaniques plutôt que métaboliques de la performance aérobie pourraient être améliorés, en accord avec le principe de spécificité de l'entraînement.

II.3.3. Résultats observés

II.3.3.1. Effets sur les facteurs physiologiques de la performance aérobie

Chez des sujets sédentaires, la réalisation de 14 semaines d'entraînement spécifique de la force musculaire maximale (5 séances/sem à 80% 1 RM) permet d'améliorer la force musculaire maximale des membres inférieurs (40%), ainsi que T_{lim} à 100% de $\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement sur ergocycle (47%) et sur tapis roulant (12%), sans modification majeure de $\dot{V}O_{2\max}$ ($\leq 4\%$) (Hickson *et al.*, 1980). Plus récemment, un programme d'entraînement de 8 semaines uniquement dédié à l'amélioration de la force musculaire maximale (3 séances/sem incluant des exercices à 85% 1 RM de type "explosif"), permet d'améliorer significativement la force musculaire maximale des membres inférieurs (90%) et P_{max} (3%) sans modification de $\dot{V}O_{2\max}$ (Loveless *et al.*, 2005). Le coût énergétique du pédalage établi sur des transitions d'exercices de pédalage réalisés en dessous vs. au-dessus de SV_1 est également améliorée (11%) (Loveless *et al.*, 2005). Cela suggère que l'entraînement en force pourrait exercer une influence sur la composante lente de $\dot{V}O_2$ lors d'exercices réalisés à puissance constante. Cette hypothèse n'est cependant pas confirmée chez des triathlètes ($\dot{V}O_{2\max} = 68 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) où l'inclusion de 2 séances de force par semaine (90% 1 RM) dans un entraînement en endurance

(20h/semaine) n'a pas d'effet sur la cinétique de $\dot{V}O_2$ à l'exercice intense (90% v $\dot{V}O_{2\max}$) (Millet *et al.*, 2002). Par contre, un effet significatif sur la force musculaire des membres inférieurs (17%), et sur la hauteur maximale de saut vertical (4%), apparaît spécifiquement après entraînement en endurance+force et n'est pas observé après entraînement en endurance uniquement (Millet *et al.*, 2002). Ces observations sont associées à des améliorations de l'économie de course (6-7%) et une augmentation de v $\dot{V}O_{2\max}$ (3%) sans modification de $\dot{V}O_{2\max}$. Dans cette étude, l'entraînement en endurance+force a également permis d'éviter la chute de la puissance maximale des membres inférieurs (mesurée sur 10 sec) présente après entraînement en endurance (13%) (Millet *et al.*, 2002). Ce dernier effet est confirmé par une autre étude chez des cyclistes entraînés, observant que la puissance maximale des membres inférieurs (mesurée sur 30 sec) est maintenue après 9 semaines d'entraînement en endurance+force, alors qu'elle diminue significativement (6%) après entraînement en endurance seulement (Bastiaans *et al.*, 2001). Le coût énergétique de pédalage calculé lors de transitions entre 50 et 70% de $\dot{V}O_{2\max}$ est également amélioré (6%) (Bastiaans *et al.*, 2001). Lors d'une série d'études menée chez des skieurs (skieuses) de fond ($\dot{V}O_{2\max} = 70$ (55) $\text{mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ respectivement), l'entraînement en endurance+force des membres supérieurs (8-9 semaines à 85% 1 RM et de type "explosif") a démontré son efficacité pour améliorer la force musculaire maximale des membres supérieurs (10-21%) et la vitesse de son développement (20-60%). Des améliorations apparaissent également pour l'économie de la poussée de bras (6-22%) et le Tlim à 100% v $\dot{V}O_{2\max}$ (57-138%) sans améliorations de $\dot{V}O_{2\max}$ (Hoff *et al.*, 1999; Hoff *et al.*, 2002; Osteras *et al.*, 2002).

Pour l'heure, seules quelques études ont mesuré directement l'effet d'un entraînement type endurance+force sur la performance chez l'athlète. Une première chez des coureurs de fond ($\dot{V}O_{2\max} = 64 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) a été publiée en 1999 (Paavolainen *et al.*, 1999a). 9 semaines d'entraînement à raison de 8-9 séances/semaine incluant des exercices d'endurance+force (0-40% 1 RM type "explosif" avec 30-200 contractions/séance) améliorent significativement la force musculaire du quadriceps (7%), l'économie de course à 15 $\text{km} \cdot \text{h}^{-1}$ (~8%) et la performance sur 5000 m (~4%), sans modification de $\dot{V}O_{2\max}$, ni des seuils ventilatoires (Paavolainen *et al.*, 1999a). Ces résultats ont été également confirmés après 6 semaines d'entraînement en endurance+force incluant 2-3 séances de force (type "explosif") par semaine dans le programme habituel (60-80 km/sem) des athlètes ($\dot{V}O_{2\max} = 58 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). L'économie de course (4-6%) et la performance sur 3000 m (3%) sont améliorées uniquement après entraînement en endurance+force sans effet sur $\dot{V}O_{2\max}$ ou SV_2 (Spurrs *et al.*, 2003). De manière similaire, 12 semaines d'entraînement à raison de 2 séances/semaine d'exercice en endurance+force dans la

même séance (type "explosif") améliorent $v\dot{V}O_{2\max}$ (10%), T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ (28%) et la performance sur 4000m (9%), sans effet spécifique sur $\dot{V}O_{2\max}$ ou SV_2 chez des sujets entraînés ($\dot{V}O_{2\max} = 54 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). Les entraînements en endurance seule ou en force seule démontrent des effets plus limités sur ces mêmes variables (Chtara *et al.*, 2005). De plus, la chronologie d'enchaînement des exercices d'endurance et de force dans la même séance semble également jouer un rôle, la modalité proposant des exercices d'endurance suivi d'exercices de force étant plus efficace que l'inverse (Chtara *et al.*, 2005).

II.3.3.2. Quels mécanismes sous-jacents?

Les mécanismes qui permettent à l'entraînement en endurance+force d'améliorer la performance aérobie au-delà de l'entraînement en endurance seule restent obscurs. Toutefois, il est bien établi que ce type d'approche n'exerce aucun effet supplémentaire sur les capacités de production aérobie d'énergie (Paavolainen *et al.*, 1999a; Chtara *et al.*, 2005). L'augmentation des stimuli mécaniques générés par l'entraînement ne semble donc pas améliorer la production aérobie d'énergie métabolique. D'autres facteurs doivent alors être plus sensibles aux stimuli mécaniques, notamment l'économie du geste mesurée à partir de la $\dot{V}O_2$, dont l'amélioration spécifique après entraînement en endurance+force a été observée à de multiples reprises (Hoff *et al.*, 1999; Paavolainen *et al.*, 1999a; Bastiaans *et al.*, 2001; Hoff *et al.*, 2002; Millet *et al.*, 2002; Osteras *et al.*, 2002; Spurrs *et al.*, 2003). Deux interprétations peuvent en être proposées: 1) la $\dot{V}O_2$ pour un exercice donné diminue car la contribution des métabolismes anaérobies à la fourniture énergétique augmente et/ou 2) la $\dot{V}O_2$ pour un exercice donné diminue car le rendement de l'utilisation de l'énergie produite par les métabolismes aérobie s'améliore. Des observations telles qu'une [La] inchangée à l'épuisement lors de tests de T_{lim} (Hoff *et al.*, 1999; Hoff *et al.*, 2002; Osteras *et al.*, 2002) et l'absence d'effet de l'entraînement en endurance+force sur les seuils métaboliques (lactiques et ventilatoires) (Paavolainen *et al.*, 1999a; Millet *et al.*, 2002; Spurrs *et al.*, 2003; Chtara *et al.*, 2005), bien que non définitifs, constituent des arguments en faveur d'un meilleur rendement.

Pour l'heure, peu d'éléments expérimentaux concrets ont été obtenus, permettant d'expliquer l'amélioration de l'utilisation de l'énergie aérobie après entraînement en endurance+force, et les hypothèses restent encore très spéculatives. Parmi celles-ci, il est considéré que l'amélioration de la force maximale des muscles actifs *per se* présente un avantage, diminuant la force relative (% 1 RM) que les muscles doivent développer pour réaliser un exercice de même intensité absolue (Hoff *et al.*, 1999; Hoff *et al.*, 2002; Osteras *et al.*, 2002).

Cette adaptation pourrait avoir un retentissement immédiat sur le recrutement musculaire qui s'effectue notamment en fonction de l'intensité relative de l'exercice (Gollnick *et al.*, 1974). Ainsi une diminution de l'intensité relative de l'exercice permettrait une réduction de la mise en jeu des fibres musculaires de type II au profit des fibres de type I, considérées comme plus économiques (moindre coût en phosphates pour générer une force donnée et/ou plus grande production de phosphates à haute énergie avec une même quantité d'O₂) (Bottinelli & Reggiani, 2000; Jones *et al.*, 2005). D'autre part, l'amélioration de la vitesse de développement de la force et de la puissance musculaire maximale, plutôt que les gains de force *per se*, pourraient également être bénéfique à l'économie du geste et à la performance aérobie (Osteras *et al.*, 2002). En effet, Tlim à une vitesse de course ou puissance mécanique donnée est largement dépendant de l'intensité relative de l'exercice, habituellement exprimée en % de $v \dot{V}O_{2 \max}$ ou % de $p \dot{V}O_{2 \max}$ (Heubert *et al.*, 2003). L'effet d'une diminution de l'intensité relative, exprimée en % de la puissance musculaire maximale, n'est pas établi mais pourrait permettre d'améliorer l'économie du geste et de retarder l'apparition de la fatigue lors d'un exercice à puissance constante.

Une modification des propriétés visco-élastiques musculaires, notamment de la raideur musculaire, pourraient également être impliquée dans l'amélioration de l'économie du geste après entraînement en endurance+force vs. endurance uniquement. En effet, la raideur du système musculo-tendineux est considérée comme une propriété déterminante à la fois de la transmission efficace des forces générées mais aussi de l'efficacité du phénomène de stockage/restitution d'énergie lors des enchaînements rapides d'étirements/raccourcissements musculaires (Wilson *et al.*, 1991). De plus, cette propriété semble modifiable par un entraînement centré sur des enchaînements rapides et répétés d'étirements/raccourcissements musculaires (type plyométrique) (Cornu *et al.*, 1997). Des corrélations significatives ont été observées entre l'adaptation de la raideur musculo-tendineuse et l'amélioration de l'économie de course chez des athlètes (Dalleau *et al.*, 1998; Spurrs *et al.*, 2003). En conséquence, des modifications de raideur musculo-tendineuse pourraient avoir contribué aux améliorations de la performance précédemment rapportées (Paavolainen *et al.*, 1999a). A l'inverse, une faible raideur musculo-tendineuse pénaliserait l'économie de course en diminuant l'énergie élastique restituable et en imposant la production de plus grandes forces musculaires. Celles-ci étant grandes consommatrices d'énergie métabolique, la $\dot{V}O_2$ de ces athlètes serait augmentée pour une vitesse de course donnée (Heise & Martin, 1998). Les éléments anatomiques impliqués dans les modifications de raideur musculo-tendineuse après entraînement ne sont pas connus mais pourraient concerner le tissu tendineux (Shorten, 1987; Spurrs *et al.*, 2003) et/ou des protéines structurales musculaires "élastiques" telles que la titine (Lindstedt *et al.*, 2002). Celle-ci est considérée comme un "ressort" intracellulaire et est impliquée dans les propriétés élastiques

musculaires (Wang *et al.*, 1993). Une étude récente suggère que l'économie de course est intimement liée à la structure musculaire des athlètes, notamment au type de fibre et aux isoformes de titine. D'ailleurs, dans cette étude, l'athlète le plus "économe" présentait une isoforme particulière de titine, caractérisée par une grande rigidité (Kyrolainen *et al.*, 2003).

II.3.3.3. Travail de force, stimuli métaboliques et stimuli mécaniques

L'augmentation de stimuli mécaniques générés par l'entraînement en introduisant des séances spécifiques de travail en force (principalement "explosive") semble bénéfique pour la performance aérobie chez les athlètes (Paavolainen *et al.*, 1999a; Spurrs *et al.*, 2003; Chtara *et al.*, 2005). Les mécanismes sous-jacents ne sont pas définitivement établis mais conduisent à une meilleure économie du geste, vraisemblablement via des adaptations nerveuses et/ou structurales, non hypertrophiques, sans amélioration des métabolismes aérobies (Saunders *et al.*, 2004a). Toutefois, les programmes utilisés jusqu'ici intègrent des séances de travail de la force dans l'entraînement habituel des athlètes, ou, remplacent des séances normalement réalisées en endurance par des séances de force. Dans ce contexte, les programmes actuels d'endurance+force manipulent les stimuli mécaniques mais aussi métaboliques dans des proportions variées. Pour les athlètes et leurs entraîneurs, la charge d'entraînement devient alors délicate à gérer et les risques de surentraînement, de blessure et de détérioration de la performance augmentent (Kraemer & Nindl, 1998). De plus, puisque les niveaux de stimulation mécanique et métabolique sont simultanément modifiés par l'entraînement en endurance+force vs. entraînement en endurance seule, il est difficile de déterminer la contribution respective de ces 2 types de stimuli dans les adaptations observées et l'amélioration de la performance aérobie qui en résulte. Le travail spécifique de la force musculaire par des exercices excentriques pourrait permettre de manipuler séparément les stimuli mécaniques et métaboliques. Puisque ce type d'exercice était inclus dans les études ayant révélé un effet positif de l'entraînement en endurance+force sur la performance aérobie (Paavolainen *et al.*, 1999a; Spurrs *et al.*, 2003; Chtara *et al.*, 2005), son effet *per se* sur la performance aérobie demande à être précisé.

II.3.3. Les actions musculaires excentriques pour améliorer la performance aérobie

Par opposition aux actions musculaires "classiques" qui se caractérisent par un raccourcissement du muscle pendant son activation (encore appelées actions musculaires concentriques), les actions musculaires excentriques correspondent à l'allongement d'un muscle préalablement activé (Cavanagh, 1988; Faulkner, 2003). Alors que les actions musculaires concentriques sont motrices et génèrent les mouvements corporels, les actions musculaires excentriques sont freinatrices et permettent par exemple d'amortir ou de ralentir la chute du corps dans la locomotion. A titre d'exemple, la course à pied en montée est un type de locomotion impliquant majoritairement des actions musculaires motrices, concentriques, alors que la course à pied en descente fait principalement appel à des actions musculaires freinatrices, permettant de maintenir la vitesse de course et d'éviter qu'elle ne s'emballe (Lindstedt *et al.*, 2001). Depuis la fin du XIX^{ème} siècle, les différences métaboliques et mécaniques entre les 2 types d'actions musculaires ont été étudiées avec attention. Ainsi, en utilisant un ingénieux ergomètre simulant la montée ou la descente de marches d'escaliers, il a été observé que le travail musculaire positif (montée des marches, concentrique) nécessite une consommation d'O₂ deux fois plus importante que le même travail négatif (descente des marches, excentrique) (Chauveau, 1896). Ce premier résultat a ensuite été largement confirmé et même amplifié puisqu'aujourd'hui, il est admis que les exercices excentriques consomment 4 à 5 fois moins d'O₂ que les exercices concentriques de même intensité absolue (même puissance mécanique externe) (Perrey *et al.*, 2001; Perrey & Hughson, 2003), sans contribution majorée des métabolismes anaérobies (Bonde-Petersen *et al.*, 1972). La dépense énergétique globale nécessaire pour réaliser des exercices excentriques est donc 4-5 fois inférieure à celle imposée par les exercices concentriques. En conséquence, pour une même dépense énergétique, les puissances mécaniques et les forces musculaires qu'il est possible de développer avec des exercices excentriques sont également 4-5 fois plus élevées (Perrey *et al.*, 2001; Perrey & Hughson, 2003), rendant ce type de travail particulièrement intéressant pour générer des stimuli mécaniques importants en minimisant les stimuli métaboliques. Malheureusement, le tissu musculaire n'est pas préparé à supporter de tels niveaux de tensions mécaniques, pouvant être largement supérieurs aux forces développées dans la vie quotidienne et/ou dans les exercices habituels de travail de la force musculaire (Lindstedt *et al.*, 2001). En conséquence, des dommages musculaires peuvent apparaître après des exercices excentriques. Ceux-ci peuvent être très invalidants au point que les exercices excentriques aient été, et continuent à être, largement utilisés comme modèle expérimental pour étudier les mécanismes de dégénération/régénération musculaire. Par contre, lorsque l'usage des exercices excentriques est réalisé avec précaution, le muscle est capable de s'adapter, sans souffrir de problèmes structuraux, ni causer l'apparition de douleurs musculaires retardées (McHugh, 2003). Ce type de travail peut alors être envisagé pour augmenter les stimuli mécaniques de

l'entraînement et améliorer la force musculaire. Bien que de nombreuses méthodes existent pour créer des situations expérimentales où le muscle fonctionne en mode excentrique (sur le terrain, en salle de musculation, sur machine isocinétique,...), des études réalisées dans les 10 dernières années ont remis au goût du jour une astucieuse (cf Fig 5), mais déjà ancienne (Abbott *et al.*, 1952; Abbott & Bigland, 1953) adaptation technique d'un ergocycle (Rooyackers *et al.*, 1997b, a; Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000; Perrey *et al.*, 2001; Lastayo *et al.*, 2002; LaStayo *et al.*, 2003a; LaStayo *et al.*, 2003b; Meyer *et al.*, 2003; Perrey & Hughson, 2003; Rooyackers *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2004). Celle-ci permet de transformer le pédalage traditionnel "concentrique" en pédalage spécifique "excentrique", et possède l'avantage de répartir les stimuli mécaniques générés par l'exercice sur une large masse musculaire. Actuellement, les résultats expérimentaux publiés ne procurent que des arguments indirects permettant de suggérer un effet potentiellement bénéfique de l'inclusion de séances d'ergocycle excentrique dans l'entraînement habituel en endurance des athlètes. De nombreuses zones d'ombre persistent quant à son utilisation pratique. Dès lors, ce travail de thèse propose d'en revoir la mise en œuvre pour obtenir un modèle spécifique de stimulation mécanique.

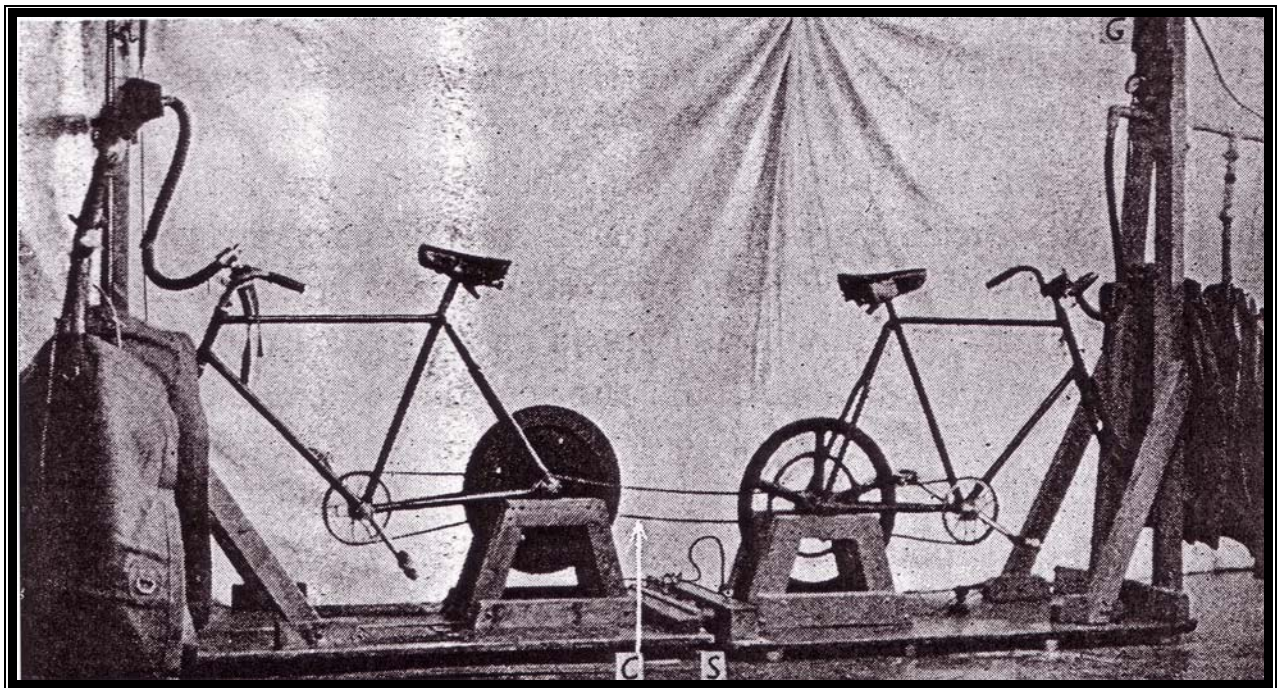


Figure 5: Un des tout premier prototype d'ergocycle excentrique utilisé par Abbott et al. (Abbott *et al.*, 1952). Deux ergocycles étaient reliés à l'aide d'un système de chaînes. Tandis qu'un sujet pédalait en mode concentrique classique, il mettait en mouvement les pédales du deuxième vélo, en sens inverse du pédalage classique. Un second sujet devait alors tenter de s'opposer au mouvement inverse des pédales et s'exerçait en mode excentrique.

II.3.3.1. La tolérance musculaire

Il est aujourd'hui bien établi que les exercices de force, générant des niveaux de tension inhabituellement élevés, peuvent provoquer des dommages musculaires et causer une perte momentanée des capacités de force (Cheung *et al.*, 2003). Ce constat est particulièrement vrai pour les exercices excentriques qui génèrent des niveaux de tensions musculaires très importants. Les pertes de force qui suivent l'exercice peuvent atteindre plus de 40% et nécessiter jusqu'à une semaine de récupération avant de revenir aux valeurs initiales (Evans *et al.*, 1990). Dans les jours qui suivent l'exercice, des douleurs musculaires apparaissent progressivement et atteignent leur apogée entre 24 et 72 h après l'exercice, avant de régresser puis disparaître (Armstrong, 1984). Les explications physiopathologiques de ce phénomène, bien que déjà largement étudiées, restent encore obscures. Toutefois, il est aujourd'hui considéré que les grandes tensions musculaires générées par les exercices excentriques pourraient dégrader les protéines structurales au niveau des lignes Z, et augmenter les niveaux de tension imposés sur les fibres musculaires adjacentes et la matrice extra-cellulaire (Patel & Lieber, 1997). Ces dommages pourraient également atteindre la membrane plasmique musculaire et engendrer une accumulation de Ca^{2+} intracellulaire, à l'origine d'une réponse inflammatoire et d'une libération d'enzymes cytoplasmiques dans le compartiment sanguin (ex: créatine kinase)(Cheung *et al.*, 2003). En conséquence, une méfiance relative des athlètes et de leurs entraîneurs existe à propos des exercices excentriques, considérés comme potentiellement néfastes pour l'intégrité du tissu musculaire et donc pour la performance.

Pourtant, le muscle est capable de s'adapter progressivement à ce type de stimuli mécaniques inhabituels, si bien qu'après quelques séances, les dommages musculaires et les pertes de force peuvent disparaître (McHugh *et al.*, 1999). Ce processus est connu sous le terme de "repeated bout effect" chez les Anglo-Saxons et semble résulter d'un ensemble d'adaptations nerveuses, mécaniques et cellulaires conférant au muscle une plus grande résistance aux stimuli mécaniques (Byrnes *et al.*, 1985). De manière intéressante, il n'est pas nécessaire que la première séance induise des dommages musculaires et une perte de force pour exercer un effet protecteur lors des séances suivantes (Nosaka *et al.*, 2001). De plus, les programmes d'entraînement à base d'exercices sur ergocycle excentrique n'induisent pas forcément de douleurs musculaires (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000). Dans la mesure où les sujets respectent les principes de progressivité des intensités et des durées d'exercice ainsi que celui de régularité des séances, les programmes d'entraînement en ergocycle excentrique n'induisent ni dommages, ni douleurs musculaires et peuvent donc être proposés aux athlètes pour leur préparation.

II.3.3.2. Principe d'utilisation

L'idée d'utiliser les exercices de pédalage excentrique pour augmenter spécifiquement les stimuli mécaniques générés par l'entraînement, tout en minimisant les stimuli métaboliques découle de leurs propriétés physiologiques particulières. Globalement, ce type d'exercice permet de développer des forces ou des puissances mécaniques 4-5 fois plus importantes que lors des exercices classiques de pédalage pour la même dépense énergétique (Perrey *et al.*, 2001; Perrey & Hughson, 2003). Concrètement, le coût énergétique du pédalage établi à partir de la pente de la relation $\dot{V}O_2$ / puissance mécanique est proche de $2-3 \text{ mlO}_2 \cdot \text{W}^{-1}$ en excentrique (Perrey *et al.*, 2001; Perrey & Hughson, 2003), alors que le même paramètre est d'environ $9-10 \text{ mlO}_2 \cdot \text{W}^{-1}$ pour le pédalage concentrique classique (Poole *et al.*, 1992; Grassi *et al.*, 1996). Les mécanismes précis permettant aux exercices excentriques d'être si peu coûteux en énergie métabolique ne sont pas clairement identifiés mais semblent concerner majoritairement un plus faible nombre de fibres musculaires actives, ainsi qu'une moindre consommation d'ATP au sein des fibres actives (Bigland-Ritchie & Woods, 1976). Au final, une moindre consommation d'ATP est observée pour la génération d'un même niveau de tension musculaire (Ryschon *et al.*, 1997) suggérant que la "particularité énergétique" des actions musculaires excentriques réside au niveau de la formation des ponts actine-myosine. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce phénomène incluant (sans y être limité) une rupture mécanique et non ATP-dépendante des ponts actine-myosine (Piazzesi *et al.*, 1992; Huxley, 1998), et/ou une plus grande distance parcourue par pont actine-myosine (Ryschon *et al.*, 1997).

Quels que soient les mécanismes sous-jacents, le faible coût énergétique des actions musculaires excentriques permet de modifier le couplage puissance mécanique/puissance métabolique traditionnellement observé dans les actions musculaires concentriques. Il devient alors possible d'imaginer des protocoles expérimentaux incluant des exercices de pédalage excentrique dans l'entraînement habituel des athlètes, afin d'obtenir un modèle de stimulation essentiellement mécanique. Pour l'heure, cette approche n'a été utilisée qu'avec des sujets sédentaires (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000), âgés (Lastayo *et al.*, 2002; LaStayo *et al.*, 2003a) ou pathologiques (Meyer *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2004). A notre connaissance, les effets d'un entraînement en ergocycle ont été brièvement suggérés chez des basketteurs (Lindstedt *et al.*, 2001; LaStayo *et al.*, 2003b) mais jamais chez des athlètes d'endurance.

II.3.3.3. Résultats observés

Chez des sujets âgés (80 ans), 10-11 semaines d'entraînement à raison de 3 séances/semaine d'ergocycle excentrique sur 10-20 min (perçu comme facile à modérément difficile) a permis d'améliorer de 60 % la force musculaire maximale des membres inférieurs sans induire spécifiquement d'hypertrophie, ni générer de douleurs musculaires (Lastayo *et al.*, 2002; LaStayo *et al.*, 2003a). Un groupe contrôle s'entraînant avec des techniques traditionnelles pour développer la force (perçu comme difficile) n'améliore pas ces paramètres.

Chez des patients coronariens (53-56 ans), 8 semaines d'entraînement en ergocycle excentrique vs. ergocycle "classique", comprenant 3 séances/semaine de 15-30 min et réalisées à 85 % de FCmax, améliore spécifiquement la force musculaire maximale des membres inférieurs (9-15%) sans modifier la densité volumique des mitochondries, des myofibrilles ou des capillaires (Steiner *et al.*, 2004). Pmax et $\dot{V}O_{2\max}$, mesurées lors d'une épreuve d'effort triangulaire conventionnelle sont augmentées de la même manière, voire améliorées ($\dot{V}O_{2\max}$) après entraînement en excentrique comparativement à un entraînement en endurance concentrique, suggérant que l'entraînement en ergocycle excentrique est compatible avec le développement des métabolismes aérobie (Meyer *et al.*, 2003). Là aussi, les auteurs n'ont observé aucune douleur musculaire, et la tolérance cardio-vasculaire des exercices d'ergocycle excentrique s'est révélée très bonne, s'accompagnant d'une amélioration (14%) de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (Meyer *et al.*, 2003).

Chez des patients souffrant de bronchopneumopathie chronique obstructive, l'ajout d'exercices sur ergocycle excentrique (5-15 min entre 22 et 120 W) aux exercices habituels d'un programme de réhabilitation en endurance pendant 10 semaines, améliore significativement Pmax (13%) sans générer de douleurs musculaires ou de problèmes respiratoires, ni améliorer $\dot{V}O_{2\max}$ (Rooyackers *et al.*, 2003). Le groupe contrôle qui ne bénéficiait pas des exercices excentriques n'améliore pas ces paramètres. Cette étude suggère que l'entraînement en ergocycle excentrique pourrait générer des effets proches des techniques d'entraînement en endurance+force précédemment décrites, et induire une amélioration de l'économie du geste.

Chez des sujets actifs ($\dot{V}O_{2\max} = 50 \text{ mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), 8 semaines d'entraînement en ergocycle excentrique vs. classique concentrique à raison de 2-5 séances/semaine de 15-30 min réalisées à 55-65% de FCmax, améliore spécifiquement la force musculaire des membres inférieurs (30%) sans générer de douleurs musculaires (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000). Aucune amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$, de la densité volumique musculaire des mitochondries, des myofibrilles, des réticulum sarcoplasmiques et des capillaires n'a été observée (Lastayo *et*

al., 2000). Par contre, le groupe "excentrique" présentait une augmentation du diamètre de section des fibres musculaires (52%) après entraînement.

Chez des sportifs, seuls des résultats préliminaires ont été rapportés après un entraînement de 6 semaines en ergocycle excentrique vs. travail de force classique chez des basketteurs américains. Les auteurs précisent que la hauteur maximale de saut vertical des joueurs s'est améliorée significativement (8%) uniquement dans le groupe "excentrique" sans donner d'autres détails (Lindstedt *et al.*, 2001; LaStayo *et al.*, 2003b). Un effet significatif des programmes d'ergocycle excentrique a également été observé sur la raideur musculo-tendineuse, mis en évidence par une élévation spécifique (11%) de la fréquence de saut spontanément choisie lors de sauts répétés, après 8 semaines d'ergocycle excentrique (Lindstedt *et al.*, 2001; LaStayo *et al.*, 2003b). Cet effet des exercices excentriques sur la raideur musculo-tendineuse est confirmé chez l'animal (Reich *et al.*, 2000) et sur les muscles fléchisseurs du coude chez l'homme (Michaut *et al.*, 2002). Cette adaptation est considérée comme importante pour l'amélioration des capacités de stockage/restitution d'énergie élastique (Lindstedt *et al.*, 2001), mais également pour la rapidité avec laquelle les forces musculaires peuvent être générées (Wilson *et al.*, 1994a; Seyfarth *et al.*, 2000).

Bien qu'obtenus avec des populations très variées, ces résultats suggèrent un effet potentiellement bénéfique de l'entraînement en ergocycle excentrique sur l'économie du geste via des adaptations de la mécanique musculaire. Néanmoins, de nombreux points restent à éclaircir avant d'envisager l'inclusion d'exercices à base d'ergocycle excentrique dans l'entraînement habituel des athlètes, dans le but d'améliorer la performance aérobie. Parmi ceux-ci, l'hypertrophie musculaire rapportée dans certaines (Lastayo *et al.*, 2000), mais pas toutes les études (LaStayo *et al.*, 2003a; Steiner *et al.*, 2004), apparaît comme potentiellement préjudiciable à la performance. Toutefois, les fréquences de pédalage utilisées jusqu'alors ont été relativement lentes (50-60 rpm) et ne mettent pas l'accent sur le caractère "explosif" des mouvements (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000; Steiner *et al.*, 2004), pourtant préconisé afin de limiter l'hypertrophie au profit des adaptations nerveuses (Paavolainen *et al.*, 1999a; Spurrs *et al.*, 2003; Chtara *et al.*, 2005). De plus, la FC, largement utilisée jusqu'ici comme marqueur de l'intensité d'exercice, semble nécessiter une interprétation spécifique en mode excentrique. La gestion des intensités d'exercice sur ergocycle excentrique doit donc être précisée afin d'obtenir un modèle spécifique de stimulation mécanique.

II.3.3.4. Le pédalage excentrique: quelle gestion de l'intensité d'exercice?

La spécificité énergétique des exercices excentriques est largement établie, et contribue à leur utilisation dans des modèles expérimentaux de stimulation majoritairement mécanique. Par contre, les exercices excentriques pourraient également présenter une spécificité circulatoire. A même puissance mécanique, les exercices de pédalage excentrique requièrent un débit cardiaque (\dot{Q}) et une FC environ 2 fois inférieurs au pédalage concentrique (Knuttgen *et al.*, 1971; Lichtneckert *et al.*, 1971; Thomson, 1971) alors que la $\dot{V}O_2$ est 4-5 fois plus faible. En d'autres termes, ces résultats suggèrent que les relations $\dot{Q}/\dot{V}O_2$ et $FC/\dot{V}O_2$ pourraient être différentes en pédalage excentrique vs. concentrique. Ces différences ont une grande importance en terme de gestion de l'intensité d'exercice, particulièrement lorsque celle-ci est basée sur la FC. En effet, une même valeur de FC relevée lors d'exercices de pédalage excentrique vs. concentrique ne correspondrait alors plus à la même valeur de $\dot{V}O_2$ et donc pas aux mêmes stimuli métaboliques! Or, jusqu'à présent, la FC a été largement utilisée pour gérer les intensités d'exercice dans les programmes d'ergocycle excentrique et interprétée probablement à tort de la même manière que pour des exercices de pédalage concentriques classiques. Cela signifie que les groupes expérimentaux inclus dans ces études se pourraient s'être en réalité entraînés à des niveaux différents de stimulation métabolique, plus faibles (d'environ 20%) lors des exercices excentriques par rapport à ceux effectués en concentrique. En conséquence, si les 2 groupes expérimentaux avaient travaillé à la même puissance métabolique, les stimuli mécaniques générés dans les groupes "excentriques" auraient été majorés. Concrètement, les résultats déjà encourageants obtenus en terme de gain de force sont donc probablement sous-estimés.

Cette possibilité de biais doit donc être vérifiée avant d'utiliser les exercices de pédalage excentrique dans la conception d'un modèle précis de stimulation mécanique, maîtrisant les stimuli métaboliques associés. Cela suggère également qu'en dehors de leurs effets chroniques dans les adaptations à l'entraînement, les stimuli mécaniques et métaboliques peuvent exercer une influence sur les adaptations aiguës à l'exercice, notamment circulatoires. Ce travail de thèse propose d'aborder cette question comme une étape préliminaire obligatoire à la mise au point d'un modèle spécifique de stimulation mécanique chronique chez l'athlète.

CHAPITRE III : ADAPTATIONS CIRCULATOIRES A L'EXERCICE : ROLE DES STIMULI METABOLIQUES ET MECANIQUES

Tels que décrits dans le chapitre précédent, les stimuli métaboliques et mécaniques générés par l'entraînement sont des éléments déterminants des réponses adaptatives structurales et fonctionnelles des systèmes neuro-musculo-tendineux et cardiovasculaire (Hawley, 2002; Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004; Kjaer, 2004). Ces adaptations ne sont cependant pas immédiates et résultent d'un effet cumulatif des séances d'entraînement (Widegren *et al.*, 2001; Fluck, 2004). Par contre, les stimuli métaboliques et mécaniques peuvent également jouer un rôle important dans les adaptations immédiates à l'exercice, notamment cardio-respiratoires. Celles-ci permettent d'apporter l'O₂, depuis l'air ambiant jusqu'aux mitochondries des muscles squelettiques, à travers les étapes de transport pulmonaire, circulatoire et musculaire. Proportionnellement, les zones de diffusions pulmonaire et musculaire constituent les principaux sites de diminution de la PO₂, alors que l'étape circulatoire permet de transporter de grandes quantités d'O₂ aux muscles actifs par convection, sans affecter la PO₂ (di Prampero, 1985; Wagner, 1992; di Prampero, 1999; Bassett & Howley, 2000). Dans les exercices sollicitant de larges masses musculaires, le transport systémique d'O₂ est étroitement lié à la puissance métabolique de l'exercice ($\dot{V}O_2$) (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Mortensen *et al.*, 2005). En conséquence, les stimuli métaboliques sont des éléments majeurs de régulation de la circulation à l'exercice, permettant d'ajuster l'apport d'O₂ aux besoins métaboliques. Au niveau pratique, la FC évolue linéairement avec la $\dot{V}O_2$ (Mortensen *et al.*, 2005), instaurant ce paramètre comme un bon indicateur de l'intensité métabolique de l'exercice, largement utilisé tant à l'entraînement qu'en compétition (Jeukendrup & van Diemen, 1998; Lucia *et al.*, 1999; Padilla *et al.*, 2000b; Padilla *et al.*, 2001; Achten & Jeukendrup, 2003; Lucia *et al.*, 2003; Esteve-Lanao *et al.*, 2005).

Les stimuli métaboliques sont considérés comme les principaux régulateurs à la fois de l'utilisation mitochondriale d'O₂ (Conley *et al.*, 2001; Lindstedt & Conley, 2001; Kushmerick & Conley, 2002) mais aussi de l'apport d'O₂, tant pour son transport systémique que pour la perfusion musculaire (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Gonzalez-Alonso *et al.*, 2004; Mortensen *et al.*, 2005). Dans ce contexte, utilisation et apport d'O₂ évoluent de manière étroitement coordonnée, assurant une continuité dans les flux d'O₂ utilisés par les mitochondries. Les mécanismes exacts en charge de ces régulations restent imparfaitement connus mais semblent largement métaboliques. Pourtant, des travaux sur les adaptations circulatoires à l'exercice excentrique suggèrent que les signaux mécaniques pourraient également jouer un rôle

actif dans la régulation de la circulation (Knuttgen *et al.*, 1971; Thomson, 1971). Dans ce cas, les ajustements circulatoires à l'exercice seraient établis sur la base de l'intégration des stimuli métaboliques mais aussi mécaniques et leur contribution respective reste à déterminer.

III.1. L'apport d'O₂ systémique et musculaire à l'exercice: rôle des ajustements circulatoires

L'étape circulatoire du transport de l'O₂ constitue un lien efficace entre les capillaires pulmonaires et les capillaires musculaires, le transport d'O₂ ainsi assuré se faisant sans diminution de la pression partielle en O₂ dans le sang artériel (PaO₂), ni du CaO₂. L'apport d'O₂ qui peut être assuré aux capillaires musculaires est donc essentiellement modulé par le flux sanguin, c'est à dire par le débit cardiaque au niveau systémique et par le débit sanguin local au niveau musculaire.

III.1.1. Le contenu sanguin artériel en O₂

La majorité du transport de l'O₂ par le sang se réalise de manière liée aux protéines d'hémoglobine présentes dans les globules rouges. Ainsi, l'O₂ lié à l'hémoglobine assure près de 99% du transport sanguin de l'O₂, le reste ayant lieu sous forme libre ou dissoute dans le plasma. Chaque protéine d'hémoglobine possède 4 sites de fixation disponibles pour des molécules d'O₂, et la capacité de transport sanguin de l'O₂ est étroitement dépendante du nombre, ainsi que de la saturation en O₂ des globules rouges dans le sang. Le contenu sanguin en O₂ s'obtient alors de la manière suivante:

$$\text{Contenu en O}_2 \text{ (ml O}_2 \cdot \text{L}^{-1}) = 1,39 \times [\text{Hb}] \times \text{SaO}_2 + 0,003 \times \text{PO}_2$$

Où 1,39 représente le pouvoir oxyphorique massique de l'hémoglobine (quantité d'O₂ qui peut être fixée par l'hémoglobine, mlO₂·g hémoglobine⁻¹), SaO₂ (%) correspondant à la saturation des globules rouges en O₂ et [Hb] représente la concentration sanguine en hémoglobine (g·100 ml sang⁻¹).

En sachant que chez l'homme sain au repos, [Hb] est d'environ 15 g·100 ml sang⁻¹, et que SaO₂ est proche de 98% dans le sang artériel, le CaO₂ atteint 20,4 ml O₂·100 ml sang⁻¹. Une

étude récente montre qu'à l'exercice, dès 50% de $\dot{V}O_{2\max}$, [Hb] augmente par hémococoncentration et la SaO₂ diminue en proportion de la baisse de PO₂ dans le sang artériel (Mortensen *et al.*, 2005). A $\dot{V}O_{2\max}$, CaO₂ augmente alors légèrement, avoisinant 21 ml O₂.100 ml sang⁻¹. Depuis l'apparition des transfusions autologues, de nombreuses autres méthodes ont été développées à des fins médicales dans le but d'améliorer l'oxygénation sanguine. Malheureusement, elles sont bien souvent détournées de leurs usages thérapeutiques au profit d'une utilisation dans le domaine sportif. Parmi celles-ci, un traitement à base de doses modérées d'EPO permet d'élever d'environ 10% [Hb] au repos (Audran *et al.*, 1999; Russell *et al.*, 2002; Connes *et al.*, 2003). Si ce gain perdure à l'exercice maximal sans modifier les réponses hématologiques à l'exercice, et surtout si les athlètes utilisateurs se limitent à des doses modérées d'EPO, CaO₂ approcherait alors 23,8 ml O₂.100 ml sang⁻¹.

A côté du rôle important joué par [Hb], la SaO₂ contribue largement à déterminer CaO₂. De manière générale, la saturation en O₂ des globules rouges est proportionnelle à la PO₂ environnante. Appliqué au niveau de l'extrémité artérielle des capillaires pulmonaires, SaO₂ varie donc en fonction de la PaO₂ suivant une relation sigmoïde décrite par la courbe de dissociation de l'hémoglobine. De nombreux facteurs peuvent modifier l'allure et la position de cette courbe, si bien que des perturbations de la PaCO₂, du pH, de la température sanguine, de la quantité de 2,3-diphosphoglycerate ou de phosphates inorganiques (ex: ATP), peuvent chacun modifier la SaO₂ pour une PaO₂ donnée (Jensen, 2004). Au niveau du sang artériel, cet effet reste modéré sur la SaO₂, puisque les variations de ces paramètres restent dans des amplitudes correspondant à la partie quasiment plate de la courbe de dissociation de l'hémoglobine. Ainsi, une baisse de pH artériel de 7.4 à 7.2, une baisse de la PaCO₂ de 41 à 37 mmHg ou une augmentation de température sanguine artérielle de 37 à 39 °C, tous ces paramètres ayant été reportés pour des intensités proches de $\dot{V}O_{2\max}$ (Gonzalez-Alonso *et al.*, 1999; Mortensen *et al.*, 2005), laissent la SaO₂ au-dessus de 90%.

Ce sang oxygéné doit ensuite être transporté vers les muscles actifs, via les circulations systémique et périphérique.

III.1.2. Le débit cardiaque

La première partie du transport sanguin de l'O₂ est réalisée des capillaires veineux pulmonaires vers l'atrium, puis le ventricule gauche, avant d'être propulsé dans l'aorte, puis les grosses artères de distribution. Depuis les poumons et avant de parvenir au cœur, le sang circule dans un réseau vasculaire à basse pression, bénéficiant de l'effet de propulseur de l'activité

cardiaque droite. Par contre, le débit sanguin qui règne dans l'aorte et les grosses artères de distribution est essentiellement régulé par le débit cardiaque, assuré par le cœur gauche.

Le débit cardiaque (\dot{Q}) correspond à la quantité de sang expulsé par le ventricule gauche à chaque minute ($L \cdot \text{min}^{-1}$). Il est déterminé par la fréquence de contraction du ventricule gauche (battements $\cdot \text{min}^{-1}$ ou bpm), et par le volume de sang éjecté à chaque systole, soit par la fréquence cardiaque (FC) et le volume d'éjection systolique (VES, ml), selon l'équation suivante:

$$\dot{Q} (L \cdot \text{min}^{-1}) = FC (\text{bpm}) \times VES (\text{ml}) : 1000$$

Au repos et en position assise, \dot{Q} avoisine $5 L \cdot \text{min}^{-1}$ chez le sujet sain (Astrand *et al.*, 1964) pour des combinaisons très variées de FC (50-85 bpm) et de VES (60-100 ml). L'évolution de FC et VES en fonction de l'intensité d'exercice, a fait l'objet d'un grand nombre de travaux et il semble que leurs adaptations respectives soient très différentes. En ce qui concerne la FC, celle-ci augmente avec l'intensité d'exercice jusqu'à atteindre son maximum à l'épuisement du sujet lors d'une épreuve d'effort progressive sur ergocycle (Rowland *et al.*, 2003; Lepretre *et al.*, 2005; Mortensen *et al.*, 2005). Par contre, l'évolution de VES est plus complexe et également plus difficile à mesurer. Il semble bien accepté que ce paramètre augmente avec l'intensité d'exercice jusqu'à environ 50% de $\dot{V}O_{2 \text{ max}}$ (Vella & Robergs, 2005). Au-delà de cette intensité, l'évolution du VES est plus débattue, avec certains travaux suggérant une poursuite, voire une accélération de l'augmentation de VES (Gledhill *et al.*, 1994; Zhou *et al.*, 2001), alors que d'autres résultats montrent plutôt une tendance au plafonnement (McLaren *et al.*, 1997; Proctor *et al.*, 1998), voire à la chute (Mortensen *et al.*, 2005) avant l'atteinte de $\dot{V}O_{2 \text{ max}}$ (cf Fig 6). Ce dernier résultat obtenu chez des cyclistes entraînés vient confirmer une série d'études menées avec des techniques largement approuvées, et semble apporter un nouvel éclairage sur les adaptations circulatoires systémiques à l'exercice. Ainsi, cette équipe vient récemment de démontrer que le \dot{Q} , mesuré par méthode directe de Fick (méthode de référence), augmente linéairement jusqu'à 80% de $\dot{V}O_{2 \text{ max}}$ avant de plafonner autour de valeurs maximales atteignant $28 L \cdot \text{min}^{-1}$. La poursuite de l'augmentation de FC ne serait alors pas suffisante pour compenser la baisse de VES (Mortensen *et al.*, 2005).

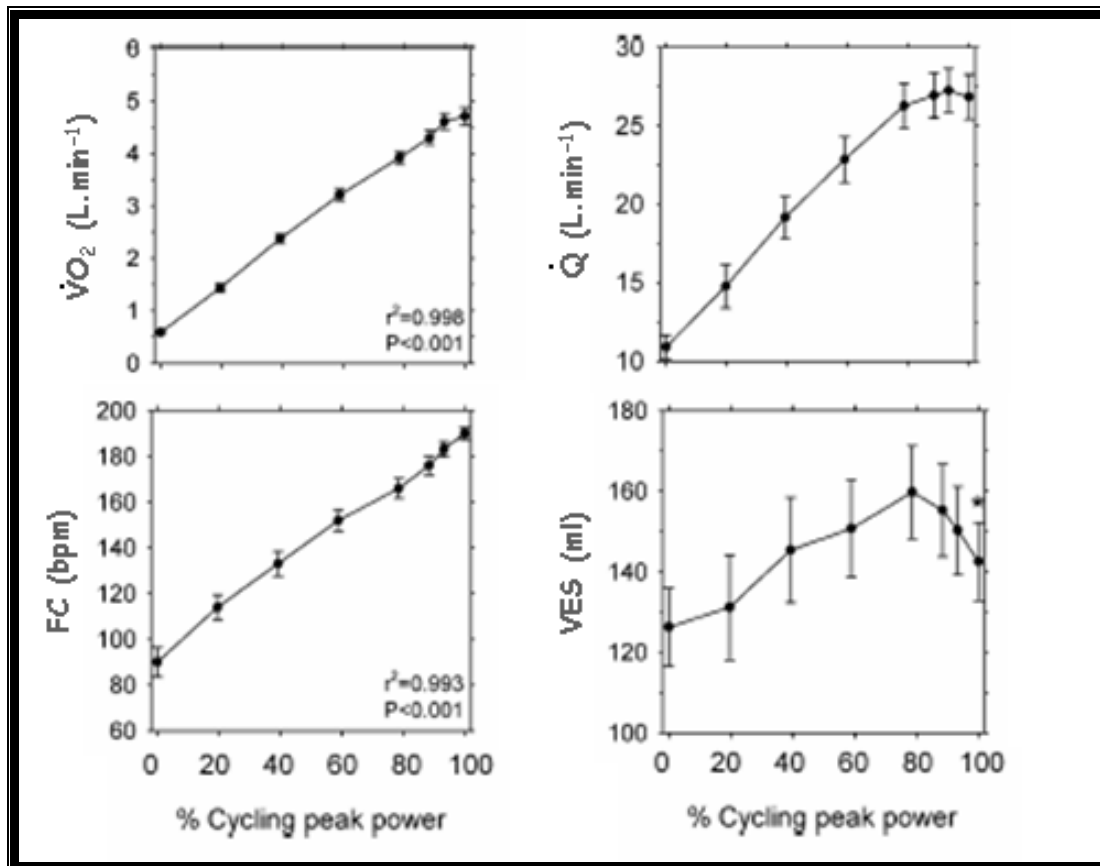


Figure 6: Evolution de la consommation d'oxygène ($\dot{V}O_2$), du débit cardiaque (\dot{Q}), de la fréquence cardiaque (FC) et du volume d'éjection systolique (VES) lors d'un test d'effort maximal progressif sur ergocycle chez des sujets entraînés. On note une chute sensible du VES bien avant l'épuisement des sujets, conduisant à un plafonnement du \dot{Q} , tandis que la FC continue d'augmenter. Adapté de Mortensen et al. (Mortensen *et al.*, 2005).

La rapidité des adaptations circulatoires à l'exercice n'a curieusement pas fait l'objet d'un aussi grand nombre de travaux que les effets de l'intensité. Ces connaissances sont souvent anciennes, et non encore confirmées par les techniques plus modernes. Toutefois, il semble que la FC soit le paramètre dont l'ajustement est le plus rapide au début de l'exercice ($t_{1/2} = 5-10$ sec) et que VES soit beaucoup plus lent (Cerretelli, 2002). En conséquence, \dot{Q} s'ajusterait plus vite que la $\dot{V}O_2$, au moins au début d'exercices modérés (Davies *et al.*, 1972; De Cort *et al.*, 1991; Yoshida & Whipp, 1994). Par contre, les ajustements respectifs de ces paramètres ne sont pas encore très clairs pour les exercices plus intenses, où la cinétique d'adaptation du \dot{Q} pourrait être proche (Yoshida *et al.*, 1993), voire plus lente que celle de la $\dot{V}O_2$ (Richard *et al.*, 2004). Curieusement, l'épuisement à l'exercice intense mené à $p\dot{V}O_{2\max}$ semble associé à une chute du \dot{Q} , résultat de la baisse de VES, alors que la FC reste stable ou continue d'augmenter (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Mortensen *et al.*, 2005). Loin d'être des points de détails, ces

connaissances sont importantes car elles procurent des informations sur les mécanismes à l'origine des régulations circulatoires systémiques à l'exercice.

III.1.3. Le débit sanguin musculaire

Quelles que soient les conditions, \dot{Q} n'est pas entièrement dirigé vers les muscles, mais distribué dans tous les territoires de l'organisme. Toutefois, à l'exercice, une redistribution sanguine se met en place et privilégie les territoires musculaires à l'exercice. Ainsi, la fraction du \dot{Q} dirigé vers les territoires musculaires passe alors d'environ 20% au repos à plus de 85-90% à $\dot{V}O_{2\max}$ (Rowell, 1993), et le débit sanguin musculaire augmente. Puisqu'il est difficile de mesurer directement le débit sanguin dans les capillaires musculaires, Andersen et Saltin ont développé en 1985 une technique de mesure du débit sanguin dans les grosses veines des membres (ex: la veine fémorale des membres inférieurs), lequel peut être considéré comme un indicateur de la quantité de sang parcourant le membre inférieur (ou les muscles de la cuisse lorsque la jambe est isolée par occlusion) par unité de temps (Andersen & Saltin, 1985). Par la suite, cette technique a été, et est toujours, largement utilisée en physiologie de l'exercice pour étudier les débits sanguins musculaires, même si d'autres méthodes, moins invasives ont également fait leur apparition (Rowland & Obert, 2002).

Le débit sanguin mesuré au niveau fémoral est dépendant de facteurs tant centraux que périphériques. La dimension des artères nourricières (Andersen & Saltin, 1985) et les valeurs maximales du \dot{Q} (Blomqvist & Saltin, 1983) sont considérées comme des paramètres centraux déterminants du débit sanguin musculaire. D'ailleurs, la chute du \dot{Q} avant l'épuisement à l'exercice constant, mené à $p\dot{V}O_{2\max}$, s'accompagne d'une baisse du débit sanguin fémoral (Mortensen *et al.*, 2005), en accord avec un rôle déterminant du \dot{Q} dans la régulation du débit sanguin fémoral. Au niveau périphérique, le débit sanguin fémoral est largement déterminé par la densité du réseau des capillaires musculaires, ainsi que par leur niveau de recrutement et de vasodilatation (Honig *et al.*, 1980). Ces derniers paramètres contribuent alors à améliorer l'apport d'oxygène aux mitochondries des muscles actifs en : 1) augmentant le temps de transit des globules rouges dans les capillaires musculaires; 2) augmentant la surface d'échange entre les capillaires et les cellules musculaires et ; 3) réduisant les distances de diffusion de l'O₂ entre les globules rouges et les mitochondries (Honig *et al.*, 1980).

Récemment, il a été démontré qu'entre le repos et $\dot{V}O_{2\max}$, le débit sanguin dans la veine fémorale passe d'environ 0,2 à plus de 10 L·min⁻¹ lors d'une épreuve d'effort progressive sur

ergocycle (Radegran *et al.*, 1999; Mortensen *et al.*, 2005). A l'exercice modéré ($<SV_1$) impliquant de larges masses musculaire, la cinétique de l'adaptation du débit sanguin musculaire semble très proche, voire légèrement plus lente que celle de la $\dot{V}O_2$ musculaire (Grassi *et al.*, 1996). Par contre, à l'exercice intense, ces informations restent aujourd'hui mal connues (Fukuba *et al.*, 2004).

III.1.4. Apport d'O₂ systémique et musculaire

L'apport d'O₂ tant systémique que musculaire, est quantifié à partir du produit du débit sanguin et du contenu sanguin artériel en O₂. On obtient alors :

$$\text{Apport d'O}_2 \text{ systémique (ml}\cdot\text{min}^{-1}\text{)} = \text{CaO}_2 \text{ (ml}\cdot\text{100 ml sang}^{-1}\text{)} \times \dot{Q} \text{ (L}\cdot\text{min}^{-1}\text{)} \times 10$$

$$\text{Apport d'O}_2 \text{ musculaire (ml}\cdot\text{min}^{-1}\text{)} = \text{CaO}_2 \text{ (ml}\cdot\text{100 ml sang}^{-1}\text{)} \times \text{débit sanguin (L}\cdot\text{min}^{-1}\text{)} \times 10$$

Ainsi, au repos, à partir du CaO₂ (20,4 ml O₂·100ml sang⁻¹), de \dot{Q} (5 L·min⁻¹) et du débit sanguin musculaire fémoral (0,2 L·min⁻¹), les apports d'O₂ systémique et musculaire fémoral avoisinent 1020 et 50 ml·min⁻¹ respectivement. Sachant qu'un homme normal possède 2 jambes (!), les territoires musculaires des membres inférieurs bénéficient donc d'environ 10% de l'apport d'O₂ systémique au repos. Grâce aux ajustements circulatoires à l'exercice, ces apports d'O₂ augmentent largement, et atteignent 6020 ml·min⁻¹ au niveau systémique, et 2150 ml·min⁻¹ au niveau musculaire fémoral à $\dot{V}O_{2\text{max}}$ sur ergocycle. D'après ces valeurs tirées des résultats de Mortensen *et al.*, les territoires musculaires des membres inférieurs reçoivent alors plus de 70% de l'apport systémique d'O₂, procurant aux muscles actifs de grandes quantités d'O₂ (Mortensen *et al.*, 2005). Celles-ci doivent alors quitter le compartiment sanguin et pénétrer dans les muscles actifs pour contribuer à la production de puissance métabolique.

III.2. Régulation des circulations systémique et musculaire à l'exercice

Des travaux récents mettent en lumière une relation étroite entre $\dot{V}O_2$ et \dot{Q} au niveau systémique, et entre $\dot{V}O_2$ et débit sanguin au niveau musculaire (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Gonzalez-Alonso *et al.*, 2004; Mortensen *et al.*, 2005). Ces résultats suggèrent un rôle déterminant des stimuli métaboliques dans les ajustements circulatoires à l'exercice. D'autres travaux, plus anciens, indiquent que les stimuli mécaniques pourraient également contribuer aux

ajustements circulatoires, au moins au niveau systémique (Knuttgén *et al.*, 1971; Lichtneckert *et al.*, 1971; Thomson, 1971). Dès lors, déterminer la contribution respective des stimuli métaboliques et mécaniques dans les ajustements circulatoires est essentiel pour préciser les mécanismes impliqués dans la régulation de la circulation. Par ailleurs, ces connaissances sont indispensables pour améliorer l'interprétation des valeurs de FC en terme d'intensité métabolique lors d'exercices excentriques, caractérisés par des stimuli mécaniques importants. A moyen terme, l'objectif de notre travail est d'utiliser ces informations pour la conception d'un modèle de stimulation mécanique chronique pour l'entraînement des athlètes, incluant des exercices sur ergocycle excentrique.

III.2.1. Quelles variables contrôlées?

Tant au niveau systémique que musculaire, les adaptations circulatoires à l'exercice doivent répondre à un double objectif:

- éviter des perturbations trop importantes de la pression artérielle systémique, via les mécanismes centraux de contrôle cardiovasculaire (Prakash *et al.*, 2004)
- apporter aux tissus l'O₂ et les nutriments nécessaires aux besoins métaboliques, via des mécanismes locaux de contrôle vasculaire (Rowell, 1993)

Cet objectif, à priori difficilement concevable, impliquant une augmentation du débit sanguin sans perturbation majeure de pression artérielle moyenne (PAM), met en jeu une 3^{ème} variable importante que sont les résistances vasculaires périphériques (RVP) (Rowell *et al.*, 1996). La régulation de la circulation peut alors être appréhendée à partir de la loi d'Ohm adaptée au réseau vasculaire:

$$\text{Débit sanguin (L}\cdot\text{min}^{-1}) = \frac{\text{PAM (mmHg)}}{\text{RVP (mmHg}\cdot\text{L}\cdot\text{min}^{-1})}$$

A l'exercice impliquant de larges masses musculaires, l'augmentation de \dot{Q} et du débit sanguin musculaire est accompagnée par une augmentation de la PAM, laquelle reste comprise entre 90 et 140 mmHg, même à $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ (Mortensen *et al.*, 2005). Ainsi, alors que les valeurs basales de \dot{Q} et de débit sanguin fémoral augmentent d'environ 6 fois à $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ sur ergocycle chez des sujets entraînés, PAM s'élève approximativement de 50% (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Mortensen *et al.*, 2005), mettant en évidence la diminution essentielle des RVP (diminution de 4 fois) dans la régulation des débits sanguins.

Les mécanismes précis mis en oeuvre pour réguler les circulations systémique et musculaire à l'exercice ne sont encore totalement connus aujourd'hui. Néanmoins, il est certain que ceux-ci sont multiples et parfois redondants, compliquant le décryptage du rôle exact de chacun d'eux. Toutefois, PAM n'est pas actuellement considérée comme un paramètre directement régulé, mais plutôt comme la résultante des ajustements des débits sanguins et des RVP. Ceux-ci demandent l'intégration d'un grand nombre d'informations, dont l'activité nerveuse sympathique et les mécanismes locaux impliqués dans la vasomotricité (Delp & O'Leary, 2004).

III.2.2. Activité nerveuse sympathique et exercice

Une large part de la circulation systémique et de l'activité cardiaque est sous le contrôle du système nerveux autonome et plus particulièrement de la balance sympathique/parasymphatique. A l'exercice, il est établi que l'activité nerveuse parasymphatique, cardiofreinatrice et dilatatrice vasculaire, diminue au profit d'une activation sympathique aux effets fréquentiels (FC) et contractiles (VES) cardiaques et vasoconstricteurs vasculaires. Cette augmentation de l'activité nerveuse sympathique est fonction de l'intensité d'exercice et de la masse musculaire mise en jeu (Mark *et al.*, 1985; Victor *et al.*, 1987; Seals, 1989; Saito *et al.*, 1993). En conséquence, FC, VES et \dot{Q} augmentent. Toutefois, les origines précises de l'augmentation de l'activité nerveuse sympathique demeurent hypothétiques et sont actuellement articulées autour de l'influence d'une commande centrale, du baroréflexe artériel et de réflexes en provenance des territoires périphériques (Mitchell & Schmidt, 1983; Rowell & O'Leary, 1990; Rowell, 1993; Rowell *et al.*, 1996).

III.2.2.1. La commande centrale de la circulation

La possibilité d'une contribution centrale à la régulation de la circulation, au moins systémique, est déjà ancienne (Krogh & Lindhard, 1913-1914, 1917). Elle postule que le système cardiovasculaire est activé de manière réflexe et simultanée aux actions motrices volontaires. L'activation du cortex moteur aurait alors la propriété d'activer parallèlement les centres cardiorégulateurs du bulbe rachidien, engendrant une augmentation de l'activité nerveuse sympathique, tout cela à partir d'une seule et même commande centrale. Ce mécanisme fonctionnerait sans avoir à prendre en compte de signaux afférents, donc sans boucle de régulation. De nombreuses observations supportent l'hypothèse d'une contribution centrale aux

ajustements circulatoires, via un effet sur la FC et \dot{Q} (Goodwin *et al.*, 1972; Leonard *et al.*, 1985; Gandevia *et al.*, 1993; Williamson *et al.*, 1995; Williamson *et al.*, 1996; Williamson *et al.*, 1997; Thornton *et al.*, 2001). Toutefois, la structure cérébrale responsable de la génération de la commande centrale, reste inconnue.

III.2.2.2. Le baroréflexe artériel à l'exercice

Le baroréflexe artériel permet de corriger les perturbations de PAM en ajustant l'activité nerveuse sympathique vers le cœur, (modulant FC, VES et \dot{Q}) ainsi que la vasomotricité du lit capillaire. A partir de barorécepteurs essentiellement localisés dans la paroi de la crosse aortique et le sinus carotidien, l'augmentation de PAM diminue l'activité nerveuse sympathique vers le cœur, ralentissant \dot{Q} et diminuant les RVP (Sagawa, 1983). Toutefois, ce fonctionnement de repos est modifié à l'exercice, où PAM et \dot{Q} augmentent simultanément. Cette observation est restée longtemps intrigante jusqu'à ce que l'on découvre que le niveau de perturbation de la PAM nécessaire pour induire une réponse sympathique, augmente à l'exercice (Rowell *et al.*, 1996). La PAM est alors contrôlée à des valeurs plus élevées. Ainsi, tant que la PAM n'augmente pas suffisamment pour atteindre le seuil d'activation du baroréflexe, \dot{Q} et PAM augmentent simultanément. Cette adaptation du baroréflexe a d'importantes répercussions fonctionnelles, puisqu'elle permet d'augmenter largement \dot{Q} , les débits sanguins musculaires et donc l'apport d'O₂ aux muscles actifs. La régulation précise du baroréflexe fait encore l'objet de nombreuses études. Toutefois, il semble que son adaptation à l'exercice mette en jeu à la fois l'influence de la commande centrale et de réflexes issus des territoires actifs (McIlveen *et al.*, 2001).

III.2.2.3. Les réflexes périphériques et la circulation à l'exercice

Chaque nerf qui vient innover les muscles squelettiques comprend des fibres efférentes (effectrices) et afférentes (sensitives), parmi lesquelles les fibres nerveuses de type III (myélinisées) et IV (non-myélinisées) (McCloskey & Mitchell, 1972). Il est important de noter que les fibres III et IV sont indépendantes des fibres I et II qui innervent respectivement les fuseaux neuromusculaires et les organites de Golgi, lesquelles ne sont pas impliquées dans la régulation réflexe de la circulation (McCloskey & Mitchell, 1972; Rowell & O'Leary, 1990). Au contraire, les fibres III et IV, encore appelées ergorécepteurs (Kniffeki *et al.*, 1981), possèdent

principalement des extrémités libres dans la matrice extracellulaire, entre les fibres musculaires, dans les tendons et aux jonctions musculo-tendineuses (Stacey, 1969). Bien que plus petites en diamètre, ces fibres afférentes III et IV représentent une large majorité des fibres nerveuses afférentes du muscle squelettique (Mitchell & Schmidt, 1983). Celles-ci ont la particularité de pouvoir engendrer des réponses ventilatoires et circulatoires (Kaufman, 1995) et réagissent à différents stimuli, incluant une accumulation interstitielle de métabolites issus des muscles en activité (Rybicki *et al.*, 1985; Rotto & Kaufman, 1988; Sinoway *et al.*, 1993), la déformation mécanique de leurs extrémités réceptrices (Kumazawa & Mizumura, 1977; Mense & Stahnke, 1983) ou des variations de la température musculaire (Sato & Schmidt, 1973; Hertel *et al.*, 1976). La mise en jeu de ces fibres nerveuses afférentes, peut augmenter l'activité nerveuse sympathique efférente et engendrer une élévation de \dot{Q} et PAM (Rowell *et al.*, 1996). La part respective de ces signaux à l'augmentation de l'activité nerveuse sympathique reste inconnue, mais pourrait dépendre du type, de l'intensité et de la durée de l'exercice.

III.2.2.4. Vasomotricité locale et exercice

Bien que des fibres nerveuses sympathiques efférentes vasodilatatrices aient été identifiées chez l'animal (Uvnas, 1966), leur existence n'a pas été confirmée chez l'homme (Bolme & Fuxe, 1970). De plus, un blocage sympathique anesthésique ou chirurgical n'empêche pas la vasodilatation observée lors de stress mental (Lindqvist *et al.*, 1996; Halliwill *et al.*, 1997) ou à l'exercice (Donald *et al.*, 1970; Shepherd, 1983). Une action vasodilatatrice musculaire directe de l'activité sympathique efférente à l'exercice apparaît donc peu probable (Joyner & Halliwill, 2000b, a). Au contraire, ses effets vasoconstricteurs périphériques sont bien établis et ne permettent curieusement pas d'expliquer la vasodilatation qui apparaît dans le lit capillaire musculaire à l'exercice (Clifford & Hellsten, 2004). Dès lors, il est aujourd'hui considéré que des mécanismes locaux fonctionnent au niveau musculaire, dans l'objectif de maintenir l'homéostasie tissulaire (Rowell, 1993). Bien que locaux, ces mécanismes seraient toutefois supplantés par des influences centrales lorsque la PAM subit des perturbations trop importantes. Cette hypothèse est en accord avec des résultats récents qui montrent que l'épuisement lors d'une épreuve d'effort progressive ou constante sur ergocycle, est associé à une augmentation des RVP et une diminution de VES, de \dot{Q} et du débit sanguin fémoral (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Mortensen *et al.*, 2005). Une conséquence directe est une limitation de l'apport d'O₂ aux muscles actifs pouvant précipiter l'arrêt de l'exercice.

Toutefois, à l'exercice sous maximal, il est bien établi que les RVP diminuent, ce qui est attribué à une vasodilatation des territoires musculaires actifs, vers lesquels est dirigé l'essentiel du \dot{Q} . Les mécanismes locaux à l'origine de cette vasodilatation périphérique pourraient mettre en jeu une composante métabolique, l'endothélium, la propagation cellulaire, un contrôle myogénique et un effet "pompe" de la musculature. Ces hypothèses ont fait l'objet de récentes revues de la littérature (Clifford & Hellsten, 2004; Thomas & Segal, 2004) et notre objectif n'est pas de les détailler ici. Par contre, ces mécanismes locaux peuvent être schématiquement répartis selon leur lien avec les stimuli musculaires métaboliques et mécaniques, lesquels apparaissent essentiels dans la régulation des ajustements circulatoires locaux et systémiques à l'exercice.

III.3. Stimuli métaboliques, stimuli mécaniques et réponses circulatoires à l'exercice

De nombreuses études ont montré que l'apport d'O₂ aux muscles actifs évolue étroitement en fonction de la puissance métabolique produite par les tissus en activité (Hamann *et al.*, 2004; Hamann *et al.*, 2005). En conséquence, lors d'exercices impliquant de larges masses musculaires, \dot{Q} et le débit sanguin musculaire sont ajustés aux besoins énergétiques, au point de démontrer une relation linéaire avec la $\dot{V}O_2$ jusqu'à environ 80% de $\dot{V}O_{2\max}$ (Mortensen *et al.*, 2005). Cette régulation très fine semble majoritairement liée aux stimuli métaboliques locaux qui accompagnent l'exercice, lesquels activent la circulation tant systémique que musculaire. Pourtant, lorsque l'intensité d'exercice augmente lors d'un test d'effort, la puissance métabolique et la puissance mécanique produites toutes deux par les muscles actifs, augmentent de manière simultanée, liées entre elles par le coût énergétique de l'activité. Dans ce cas, les 2 types de stimuli contribuent de manière concomitante aux ajustements circulatoires à l'exercice, mais leur contribution respective reste obscure.

III.3.1. Influence des stimuli métaboliques

III.3.1.1. Métaboréflexes et ajustements circulatoires à l'exercice

Les perturbations de l'homéostasie interstitielle qui accompagnent l'exercice, telles que l'accumulation d'acide lactique, de phosphates inorganiques, d'adénosine, de bradikinine ou de

sérotonine, activent les fibres nerveuses afférentes III et IV métabosensibles périphériques (Rowell & O'Leary, 1990). En autres techniques, l'utilisation d'occlusions artérielles en fin d'effort intense, en empêchant l'évacuation par la circulation musculaire des métabolites accumulés au niveau musculaire, a permis de vérifier que la mise en jeu métaborécepteurs périphériques était capable d'augmenter l'activité sympathique efférente cardiaque (Piepoli *et al.*, 1995). Une hypersensibilité de ce réflexe engendrant un défaut de vasodilatation périphérique (donc d'apport d'O₂ au muscles actifs) semble impliquée dans le handicap physique associé à l'insuffisance cardiaque (Piepoli *et al.*, 1996; Piepoli, 1998; Piepoli *et al.*, 1999; Ponikowski *et al.*, 2001a; Ponikowski *et al.*, 2001b; Scott *et al.*, 2003). Le métaboréflexe apparaît donc comme un puissant mécanisme de régulation circulatoire, augmentant l'activité sympathique afférente vers les centres cardiorégulateurs du bulbe rachidien et engendrant une augmentation de l'activité nerveuse sympathique efférente vers le cœur et les réseaux vasculaires. En conséquence, la FC et VES peuvent augmenter (Crisafulli *et al.*, 2003), accompagnés d'une vasoconstriction généralisée des territoires non actifs, tels que la peau, les os, les viscères et les reins. Le signal de vasoconstriction semble également dirigé vers les muscles actifs, qui peuvent néanmoins y échapper par les mécanismes locaux de régulation tant que la PAM n'est pas dangereusement perturbée (cf. "functional sympatholysis") (Remensnyder *et al.*, 1962).

De manière indirecte, la vasodilatation des territoires musculaires actifs perturbe la PAM, tant que les débits sanguins ne sont pas ajustés. Ces variations sont détectées par le baroréflexe qui augmente alors l'activité nerveuse sympathique vers le cœur, mais aussi vers les muscles actifs. Tant que l'intensité d'exercice reste modérée, la vasodilatation musculaire semble principalement régulée par les mécanismes locaux, et la PAM est essentiellement stabilisée par l'effet du baroréflexe sur la circulation systémique. Toutefois, lorsque l'exercice devient plus intense, les capacités de vasodilatation musculaire pourraient nécessiter des débits sanguins locaux, et surtout un \dot{Q} supérieur aux capacités de pompage cardiaque, faisant alors dangereusement chuter la PAM. Ainsi, il a été estimé qu'à l'exercice intense impliquant de larges masses musculaires, la vasodilatation maximale des territoires musculaires devrait s'accompagner d'un \dot{Q} proche de 40 L·min⁻¹, soit quasiment 10 L·min⁻¹ de plus que les valeurs maximales effectivement mesurées (Calbet *et al.*, 2004)! Afin d'éviter une telle situation, le baroréflexe et son activité nerveuse sympathique vasoconstrictrice musculaire reprendraient le dessus sur les mécanismes locaux de régulation circulatoire (Collins *et al.*, 2001), augmentant les RVC pour maintenir la PAM.

Les ajustements circulatoires systémiques à l'exercice apparaissent donc fortement liés aux stimuli métaboliques, lesquels peuvent également engendrer des ajustements au niveau musculaire.

III.3.1.2. Stimuli métaboliques et vasomotricité

D'après la théorie du contrôle métabolique du débit sanguin musculaire, l'activité métabolique et les muscles lisses des vaisseaux, constituent un système de contrôle local qui couple l'apport d'O₂ et de nutriments à l'activité métabolique tissulaire (Delp & Laughlin, 1998; Delp & O'Leary, 2004). Ainsi, l'augmentation de la puissance métabolique générée par les muscles actifs entraîne inévitablement une accumulation, d'abord intracellulaire, puis interstitielle et sanguine, de substances vasoactives, telles que des ions H⁺ ou K⁺ et des molécules d'adénosine, adénine nucléotides, phosphates, monoxyde d'azote, histamine, kinines ou prostaglandines. En parallèle, la PO₂ et le pH diminuent au niveau cellulaire et dans les capillaires musculaires. L'environnement chimique à proximité des capillaires musculaires est donc profondément modifié, causant la relaxation des cellules musculaires lisses. Cette relaxation peut résulter d'un effet direct des substances vasoactives, comme c'est le cas pour les artérioles terminales à proximité des cellules musculaires actives (Berg *et al.*, 1997). Au niveau fonctionnel, on observe alors une ouverture du réseau capillaire, mais sans effet majeur sur le débit sanguin musculaire (Segal, 1992). Par contre, la vasodilatation initiée dans les artérioles terminales peut se propager vers les artérioles plus proximales, voire les artères nourricières des membres, et engendrer alors de fortes élévations du débit sanguin musculaire (Segal, 1994, 2000). De cette manière, la répartition spatiale du débit sanguin est couplée au recrutement des fibres musculaires actives (Fuglevand & Segal, 1997; Sarelius *et al.*, 2000).

En parallèle des cellules musculaires lisses, l'endothélium vasculaire est également considéré comme un élément déterminant des ajustements circulatoires à l'exercice. L'endothélium vasculaire recouvre tout le système cardiocirculatoire (vaisseaux, cœur et valves) et possède une localisation stratégique, à l'interface entre le sang circulant et les cellules musculaires lisses des vaisseaux. Avec le muscle squelettique, il est capable de produire des substances vasoactives puissantes telle que le monoxyde d'azote (NO), pouvant diffuser vers les cellules musculaires lisses et exercer un effet vasorelaxant (Murad, 1986; Gilligan *et al.*, 1994). Une inhibition de la production de NO suite à l'injection intraveineuse de N^G-nitro-L-arginine méthyl ester (L-NAME) entraîne une diminution significative de la $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ mesurée sur ergocycle chez des sujets sédentaires (25 ans), suggérant un rôle important du NO dans la

régulation de l'apport d'O₂ et des débit sanguins systémique et/ou musculaire (Jones *et al.*, 2004). A l'exercice, l'accumulation de substances telles que la bradikinine, l'acétylcholine et l'ATP peuvent initier la production de NO par l'endothélium vasculaire (Furchgott & Martin, 1985). D'autre part, les globules rouges constituent également une source potentielle de NO (Jia *et al.*, 1996; Stamler *et al.*, 1997) et d'ATP (Ellsworth *et al.*, 1995) à l'exercice, notamment au moment de la libération de l'O₂ lié à l'hémoglobine. Le NO pourrait alors diffuser vers les cellules musculaires lisses et l'ATP pourrait s'associer aux récepteurs purinergiques P_{2y} des cellules endothéliales vasculaires. En réponse, celles-ci seraient capables de sécréter du NO et/ou d'autres facteurs hyperpolarisants, dont l'action sur les cellules musculaires lisses vasculaires conduirait à une vasodilatation (Ellsworth *et al.*, 1995). L'observation d'une meilleure relation entre le débit sanguin à l'exercice et la SaO₂, plutôt que la PO₂, conforte la possibilité d'un rôle fonctionnel important de la quantité d'O₂ fixée sur les globules rouges dans les adaptations circulatoires à l'exercice (Roach *et al.*, 1999; Gonzalez-Alonso *et al.*, 2001). La même équipe a également démontré que l'injection d'ATP dans l'artère fémorale, au repos, augmente le débit sanguin fémoral au même niveau que l'exercice maximal d'extension du genou (Gonzalez-Alonso *et al.*, 2002), en accord avec un rôle important de l'ATP circulant dans les ajustements de débit sanguin musculaire à l'exercice.

Les événements métaboliques locaux peuvent donc être responsables d'ajustements circulatoires à la fois localisés au sein des territoires actifs, mais également bien en amont des territoires actifs. Qu'en est-il des stimuli mécaniques?

III.3.2. Influence des stimuli mécaniques

Pour de faibles intensités d'exercice, des ajustements circulatoires apparaissent alors que les perturbations de l'homéostasie cellulaire, interstitielle et sanguine ne sont pas majeures. Cela indique que, soit les mécanismes métaboliques qui régulent les circulations systémique et musculaire sont extrêmement sensibles à la moindre perturbation de l'homéostasie, soit qu'il existe d'autres systèmes de contrôle des adaptations circulatoires à l'exercice, basés sur des signaux non métaboliques, dont les signaux mécaniques.

III.3.2.1. Mécanoréflexes et réponse circulatoire à l'exercice

Alors qu'historiquement la mécano-sensibilité musculaire était majoritairement attribuée aux fibres nerveuses afférente de type III (Kaufman *et al.*, 2002), il est aujourd'hui accepté que les fibres nerveuses afférentes de type IV (initialement considérées comme métabo-sensibles) possèdent aussi la propriété de répondre aux stimuli mécaniques (Leshnower *et al.*, 2001). En fait, une partie des fibres III et IV sont considérées comme polymodales et peuvent réagir aux stimuli métaboliques et aux stimuli mécaniques (Li *et al.*, 2004). En conséquence, des augmentations de la pression intramusculaire ou de la tension musculaire entraînent une élévation de l'activité nerveuse sympathique et/ou une diminution de l'activité nerveuse parasympathique, augmentant la PAM et la FC (Murata & Matsukawa, 2001; Gladwell & Coote, 2002). La distorsion du réseau veineux a également été proposée comme mécanisme majorant l'activité afférente des fibres III et IV (Haouzi *et al.*, 1999; Haouzi *et al.*, 2004).

Chez le chat, il a été montré à plusieurs reprises que l'activation des mécanorécepteurs par l'étirement passif des muscles de la jambe engendre une augmentation de la FC et de la PAM (Stebbins *et al.*, 1988; Wilson *et al.*, 1994b; Leshnower *et al.*, 2001). Chez l'homme, des pressions exercées directement sur le muscle (McClain *et al.*, 1994; Williamson *et al.*, 1994), les étirements musculaires (Baum *et al.*, 1995) ou les mouvements passifs (Nobrega *et al.*, 1994) permettent également d'augmenter la PAM. L'effet des stimuli mécaniques sur la FC est moins clair mais il a été démontré que l'étirement passif du muscle triceps sural augmente significativement la FC (Gladwell & Coote, 2002). Le rôle des stimuli mécaniques dans les ajustements circulatoires à l'exercice chez l'homme est donc bien accepté, et pourrait même être impliqué dans le handicap musculaire de l'insuffisant cardiaque en contribuant à majorer l'excès d'activité nerveuse sympathique qui les caractérise à l'exercice (Negrao *et al.*, 2001; Middlekauff *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2005).

En parallèle à ces mécanismes nerveux, les signaux mécaniques peuvent également générer des ajustements circulatoires directs.

III.3.2.2. Stimuli mécaniques et débit sanguin musculaire

Lors de la contraction musculaire, les pressions interstitielles et intramusculaires augmentent avec la force développée (Ballard *et al.*, 1998), et des compressions/distorsions du réseau vasculaire apparaissent. Ces stimulations pourraient évoquer une vasodilatation myogénique dont les mécanismes restent à déterminer (Tschakovsky & Sheriff, 2004).

Toutefois, ceux-ci pourraient impliquer l'endothélium vasculaire musculaire (Hamann *et al.*, 2005) et le potentiel de membrane (Tschakovsky *et al.*, 2004) et/ou une rupture mécanique des ponts actine-myosine des cellules musculaires lisses (Tschakovsky & Sheriff, 2004). Quoi qu'il en soit, le réseau vasculaire musculaire est sensible aux déformations, étirements, pressions ainsi qu'aux contraintes liées à l'écoulement du flux sanguin (Koller & Bagi, 2002), lesquels représentent autant de signaux capables d'engendrer une vasodilatation et d'augmenter le débit sanguin musculaire.

Au-delà d'un effet sur la vasodilatation *per se*, les contraintes mécaniques exercées sur les tissus musculaires pourraient également comprimer le réseau vasculaire du ou des muscles en activité. Au moment de la contraction, une partie du volume sanguin contenu dans le réseau vasculaire, principalement au pôle veineux, sera éjecté (cf Fig 7), améliorant le retour sanguin veineux : c'est l'effet pompe du muscle squelettique (cf "peripheral muscle pump"). En conséquence, la pré-charge cardiaque serait améliorée de manière passive, augmentant le volume télédiastolique, le VES et \dot{Q} (Sheriff, 2005). Récemment, le rôle fonctionnel exact de la pompe musculaire, parfois présentée comme le "cœur périphérique" (Rowland, 2001), a fait l'objet de débats animés au sein de la communauté scientifique, appelée à s'exprimer sur le sujet dans une série de controverses (Point/Counterpoint) publiée au Journal of Applied Physiology. En résumé de nombreuses études, bien souvent réalisées sur des préparations musculaires isolées ou des modèles animaux, il semble que cet effet "pompe" musculaire agisse bien sur le retour veineux, mais son effet sur le débit sanguin musculaire à l'exercice reste largement controversé, variant avec le type d'exercice, la position du sujet et l'intensité d'exercice (Barstow *et al.*, 2005; Clifford *et al.*, 2005; Laughlin, 2005; Magder, 2005; Miller, 2005; Panchev *et al.*, 2005; Rothe, 2005; Tschakovsky, 2005; Wray & Richardson, 2005). Chez l'homme sur ergocycle, il a été montré que l'effet "pompe" musculaire existait, variant non pas en fonction de la force de contraction, mais plutôt de la fréquence de contraction (Gotshall *et al.*, 1996). La tension générée par les muscles actifs ne serait alors pas déterminante, et l'effet "pompe" musculaire serait déjà optimal lors d'un pédalage à 0 W, aucune amélioration n'étant observée à mesure que la puissance mécanique de pédalage augmente (Flamm *et al.*, 1990). Dès lors, ces données suggèrent que la distance de mobilisation musculaire et la fréquence de contraction sont les paramètres les plus déterminants de l'efficacité de la "pompe" musculaire. Dans ce contexte, un effet significatif des niveaux de tension musculaire développés, sur les réponses circulatoires systémique et musculaire reste hypothétique.

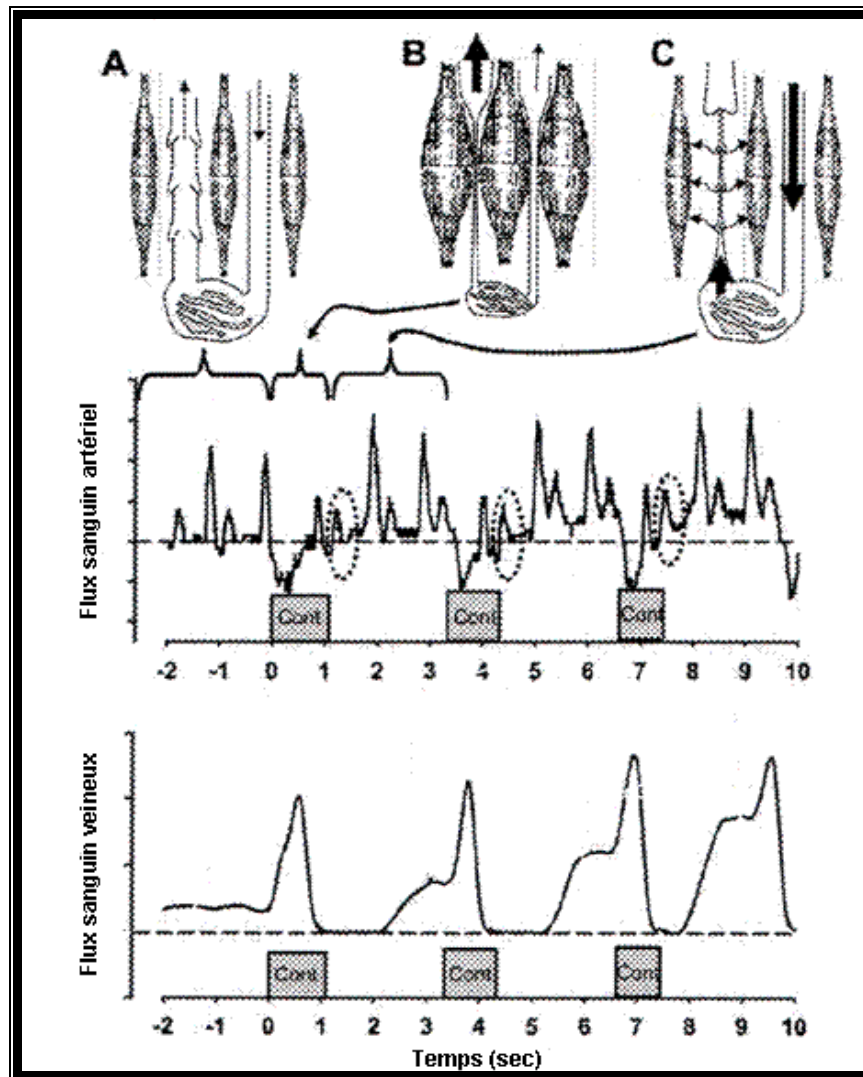


Figure 7: Principe de l'effet "pompe" musculaire à l'exercice. Données obtenues lors d'exercices répétés de serrage de poing et les périodes de contractions sont indiquées par les rectangles grisés. Le débit sanguin artériel représente des valeurs typiques observées par l'équipe de Tschakovsky et al. (Saunders & Tschakovsky, 2004). Le débit sanguin veineux correspondrait à la somme des débits mesurés dans les veines de l'avant bras et est estimé à partir des données de Anrep et von Saalfeld ainsi que Dobson et Gladden (Anrep & von Saalfeld, 1935; Dobson & Gladden, 2003). A: au repos, les veines sont remplies de sang et les valves sont ouvertes, le débit sanguin artériel est équivalent au débit sanguin veineux. B: la contraction musculaire bloque l'entrée du sang artériel dans le territoire musculaire, pouvant créer un débit sanguin artériel négatif, et éjecte dans le même temps le sang veineux vers le cœur. C: lors du relâchement musculaire, le flux sanguin artériel augmente immédiatement au dessus des valeurs de repos. Adapté à partir des travaux de Tschakovsky et Sheriff (Tschakovsky & Sheriff, 2004).

OBJECTIFS SCIENTIFIQUES

Récapitulatif des problématiques

Les éléments déterminants de l'efficacité d'un programme d'entraînement sont le volume (durée), l'intensité et la fréquence des séances d'entraînement. Ces 3 paramètres établissent la charge d'entraînement à laquelle l'athlète est soumis, pouvant améliorer (adaptation) ou altérer (surentraînement/sous-entraînement) sa capacité de performance (Fitz-Clarke *et al.*, 1991; Banister *et al.*, 1999). Les réponses adaptatives induites par l'entraînement sont directement liées à la charge d'entraînement réalisée par l'athlète (Fitts *et al.*, 1975), et à l'importance des stimuli métaboliques et mécaniques qu'elle génère (Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004). Toutefois, à mesure que la charge d'entraînement augmente, les gains de performance plafonnent, conduisant les athlètes à augmenter parfois démesurément leur charge d'entraînement dans l'espoir de poursuivre leur progression (Jeukendrup *et al.*, 2000; Hawley & Stepto, 2001). La contribution respective des stimuli métaboliques vs. mécaniques dans les adaptations/désadaptations à l'entraînement, reste largement ignorée. Pour apporter des éléments de réponse à cette question, il semble important de développer des modèles expérimentaux permettant de manipuler sélectivement les stimuli métaboliques et mécaniques à l'exercice chez l'homme à l'exercice.

Dans ce contexte, des méthodes d'entraînement particulières se sont développées, visant à augmenter spécifiquement les niveaux de stimulation métabolique et/ou mécanique dans le but d'améliorer la performance aérobie. Parmi celles-ci, l'entraînement en altitude peut être considéré comme un moyen d'augmenter les stimuli métaboliques associés à l'entraînement en plaine dans le but d'induire des adaptations métaboliques supplémentaires, et améliorer la performance aérobie. Toutefois, les modèles expérimentaux utilisés jusqu'ici se sont accompagnés d'une diminution concomitante des stimuli mécaniques ou n'ont peut être pas utilisé des intensités d'exercice en altitude suffisamment élevées pour observer un effet bénéfique spécifique de ce type d'approche sur la performance aérobie en plaine. Les modalités pratiques de la mise en œuvre de l'entraînement en altitude comme modèle spécifique de stimulation métabolique ainsi que son effet sur la performance aérobie restent à déterminer. De même, les adaptations mitochondriales et moléculaires qui pourraient accompagner ce type d'entraînement n'ont jamais été étudiées et demandent à être précisées.

Par ailleurs, l'entraînement à base d'exercices excentriques permet de majorer les stimuli mécaniques tout en minimisant les stimuli métaboliques. L'utilisation de ce type d'exercice pour concevoir un modèle spécifique de stimulation mécanique chez l'athlète, et en étudier les effets sur la performance aérobie n'a pour l'heure jamais été rapportée. Les modalités pratiques de sa mise en œuvre nécessitent encore des travaux préliminaires, notamment pour déterminer comment gérer les intensités d'exercice en ergocycle excentrique. En effet, les stimuli

mécaniques vs. métaboliques pourraient avoir, via leurs effets sur les ajustements circulatoires à l'exercice, des répercussions importantes sur l'interprétation de la FC comme marqueur de l'intensité d'exercice.

Dès lors, au cours de ce travail de thèse, 3 études ont été menées chez l'homme:

1^{ère} étude: Déterminer si une augmentation spécifique des stimuli métaboliques, via l'utilisation à l'exercice de l'altitude simulée par l'hypoxie normobarique, permet d'améliorer la capacité de performance aérobie d'athlètes entraînés et en identifier les mécanismes sous-jacents. Une intensité élevée (SV_2) et une durée modérée (24-40min) ont été choisies pour les séances en altitude simulée (3 000m), dans le but de minimiser les perturbations imposées aux stimuli mécaniques de l'entraînement habituel des athlètes. Les objectifs poursuivis étaient triples: 1) évaluer les effets de ce type de programme sur les facteurs de la performance aérobie en altitude et au niveau de la mer; 2) déterminer l'effet de ce type de programme sur la fonction mitochondriale du muscle squelettique et ses liens potentiels avec la capacité de performance aérobie; 3) évaluer si l'utilisation de l'altitude proposée dans ce programme génère une réponse transcriptionnelle spécifique et identifier les voies potentielles de la signalisation cellulaire impliquées dans les modifications fonctionnelles observées sur la performance et la fonction mitochondriale.

2^{ème} étude: Etablir une méthodologie simple pour utiliser la FC comme marqueur de l'intensité métabolique d'exercice sur ergocycle excentrique. A partir d'épreuves d'effort progressives réalisées sur ergocycle traditionnel vs. excentrique, notre objectif était double :1) établir les relations $FC/\dot{V}O_2$ et $\dot{Q}/\dot{V}O_2$ à l'exercice excentrique, dans le but d'utiliser la FC comme marqueur du niveau de stimulation métabolique à l'exercice excentrique ; 2) déterminer la variabilité interindividuelle de la différence de FC permettant d'obtenir la même $\dot{V}O_2$ en pédalage excentrique vs. pédalage concentrique traditionnel.

3^{ème} étude: Déterminer le rôle des stimuli métaboliques vs. mécaniques dans les ajustements circulatoires à l'exercice. En utilisant des exercices à puissance constante sur ergocycle concentrique traditionnel vs. ergocycle excentrique, notre objectif était d'obtenir un modèle expérimental spécifique de stimulation mécanique afin de: 1) estimer les contributions métaboliques et mécaniques dans la régulation des ajustements circulatoires à l'exercice; 2) évaluer le rôle du niveau global d'activation musculaire dans ces ajustements.

MATERIELS ET METHODES

DEVELOPPEMENT OU IMPORTATION DE NOUVELLES TECHNIQUES AU SEIN DU LABORATOIRE

Certaines mesures expérimentales rapportées dans ce travail de thèse ont nécessité l'importation ou le développement de nouvelles techniques au sein du laboratoire, notamment le développement d'un ergocycle excentrique et la mise en œuvre de l'électromyographie de surface ainsi que l'importation de techniques de modélisation mathématique à partir de régression non linéaire.

1. L'ergocycle excentrique

Sur la base du prototype développé par le Professeur Hans Hoppeler à Berne (Suisse) et grâce aux compétences techniques de notre ingénieur biomédical Jean Pierre Speich, un prototype d'ergocycle excentrique a été développé au laboratoire (cf Fig 8). Ma contribution s'est portée sur la mise au point finale du prototype, notamment pour régler les problèmes de stabilisation de pieds sur les pédales au cours du pédalage. Ce prototype est adapté à partir d'un modèle classique d'ergocycle en position semi-assise (Recline XT, TechnoGym, Gambettola, Italy), sur lequel a été rajouté un moteur électrique asynchrone de 2,2 kW (MasterDrive Simovert Vector Control, Siemens, Erlangen, Germany). En mode excentrique, ce moteur permet de mettre en mouvement les pédales dans le sens inverse du sens de pédalage concentrique classique. Il permet également de générer une résistance à vaincre lorsqu'il fonctionne en mode classique concentrique. La mesure de la puissance mécanique développée par le sujet est contrôlée de manière indépendante dans les 2 modes de fonctionnement à l'aide d'un appareil de calibration composé d'un couple-mètre et d'un tachymètre. La précision des mesures de puissances mécaniques réalisées par le prototype est de ± 5 W entre 0 et 1000 W. Le prototype est commandé par un ordinateur et un logiciel spécifique (Labview FDS 5.1, National Instruments, Austin, Etats-Unis), permettant son fonctionnement aussi bien en mode excentrique qu'en mode concentrique. Le siège et les repose-mains du prototype peuvent être ajustés à la morphologie des sujets.



Figure 8: Prototype d'ergocycle excentrique développé au laboratoire. Un logiciel spécifique permet de contrôler le moteur additionnel nécessaire au fonctionnement de l'ergocycle dans les 2 modes de pédalage (concentrique et excentrique).

2. L'électromyographie de surface

L'enregistrement de l'activité électromyographique (EMG) a été développé au laboratoire en utilisant la technique de l'EMG bipolaire de surface. Les enregistrements s'effectuent avec des électrodes circulaires au chlorure d'argent, possédant une aire de mesure de 20 mm de diamètre et placées à une distance inter-électrodes de 30 mm (BlueSensor, Medicotest, Istrykke, Danemark). Ces électrodes sont directement collées sur la peau, sur le ventre musculaire, dans le sens des fibres, et maintenues à l'aide d'un adhésif, afin de prévenir les éventuels décollements causés par la sudation. La peau est préalablement rasée, légèrement abrasée et nettoyée avec de l'alcool pour réduire l'impédance inter-électrode à une valeur inférieure à 5 k Ω , réduisant la proportion de bruit dans le signal EMG obtenu. Les câbles reliant les électrodes à l'interface d'acquisition du signal sont maintenus à l'aide d'un adhésif afin de limiter les mouvements des fils et réduire le bruit dans le signal EMG. Les signaux EMG sont amplifiés (bande passante 20-500 Hz, Common Mode Rejection Ratio > 76 dB, impédance d'entrée 200 M Ω , gain=1000) et digitalisés avec une fréquence d'acquisition de 2000 Hz (Dual Bio Amp, ADInstruments, Castle Hill, Australia). Une électrode de référence est placée sur une zone électriquement neutre (tubérosité tibiale).

L'activité EMG est quantifiée en calculant la RMS (root mean square) selon la formule suivante:

$$\text{RMS} = \frac{\sqrt{\int_t^{t+T} (\text{EMG})^2 dt}}{T}$$

La RMS est considérée comme un paramètre quantitatif de l'activité neuromusculaire globale des muscles sur lesquels le signal est enregistré.

3. La modélisation des cinétiques de consommation d'O₂

Les analyses des vitesses d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ à l'exercice, rapportées dans ce travail, ont été possibles par l'importation au laboratoire des techniques appropriées que j'ai acquises lors de mon DEA auprès du Pr. Véronique Billat, à la Faculté des Sciences du Sport de Lille. Celles-ci mettent en œuvre des techniques de régression non linéaire à partir de modèles à mono ou doubles exponentielles, permettant d'ajuster au mieux les paramètres du modèle afin de minimiser la somme du carré des résidus (différence entre la valeur expérimentale et la valeur du

modèle). Classiquement, l'étude des vitesses d'ajustement nécessite en théorie plusieurs répétitions d'un même test, afin de moyenner les données obtenues et ainsi réduire le "bruit" contenu dans le signal. Cette méthode étant impossible à appliquer avec nos athlètes qui réalisent des Tlim jusqu'à épuisement, nous avons utilisé la méthode du "bootstrap" pour obtenir une estimation de la précision des paramètres du modèle déterminés par les régressions multiples non linéaires. Cette méthode nous a été expliquée par le Dr. Fabio Borrani de l'Institut des Sciences du Sport et de l'Education Physique de Lausanne, Suisse. Elle permet de recréer, par tirage au sort, 1000 fichiers de $\dot{V}O_2$ différents, mais de la même taille que le fichier initial, à partir des données expérimentales d'origine. De cette manière, un coefficient de variation est calculé pour tous les paramètres du modèle de manière individuelle, donnant ainsi une idée de la précision de leur détermination (Borrani *et al.*, 2001; Borrani *et al.*, 2003; Millet *et al.*, 2003).

1ERE ETUDE: ENTRAINEMENT EN ALTITUDE INTERMITTENTE CHEZ L'ATHLETE

EFFETS SUR LA CAPACITE DE PERFORMANCE AEROBIE, LA FONCTION MITOCHONDRIALE ET LES VOIES POTENTIELLES DE SIGNALISATION

I.1. Population et critères d'inclusion

18 athlètes masculins ont participé à cette étude qui a reçu l'avis favorable du C.C.P.P.R.B. d'Alsace et a été financée par le Comité International Olympique. Tous les athlètes sont issus des clubs d'athlétisme locaux et les critères suivants ont été réunis pour leur inclusion dans l'étude: 1) meilleur temps sur 10 000m inférieur à 35 min (ou performance équivalente sur d'autres distances); 2) entraînement habituel comprenant au moins 5 séances/sem dont 2 séances consacrées au développement de SV_2 ; 3) pas de pathologie ou de traitement médical susceptible de contrarier le bon déroulement de l'entraînement et d'interférer avec les évaluations; 4) ne pas avoir séjourné en altitude dans les semaines précédant l'étude et vivre à moins de 300 m d'altitude pendant le déroulement de l'étude. Ces critères ont été choisis dans le but d'étudier une population expérimentale dont la charge d'entraînement est importante, et chez qui les adaptations induites par l'entraînement sont déjà bien établies.

Un tirage au sort a permis de répartir les athlètes en 2 groupes expérimentaux appariés en âge et en $\dot{V}O_2 \text{ max}$. Le groupe hypoxie de 9 athlètes (HYP) réalise ses 2 séances hebdomadaires dédiées au développement du SV_2 en conditions d'altitude simulée, sans modifier ses autres séances habituelles. Le groupe contrôle ne modifie pas son entraînement habituel, et donc réalise ses séances au SV_2 en normoxie.

I.2. Protocole

Le protocole expérimental est organisé autour de 3 phases distinctes précédées par l'examen clinique:

- Session de tests et d'analyses d'avant entraînement
- Période d'entraînement
- Session de tests et d'analyses d'après entraînement

I.2.1. Examen clinique

Avant leur inclusion définitive dans l'étude, les athlètes se sont soumis à un examen clinique complet, visant à s'assurer de l'absence de contre-indications médicales à l'exercice, particulièrement en altitude. Cet examen clinique comprend:

- un interrogatoire et l'examen médical de repos
- un bilan anthropométrique: mesure du poids, de la taille, calcul du pourcentage de masse grasse par la méthode des 4 plis cutanés (Durnin & Womersley, 1974).
- un électrocardiogramme et échographie cardiaque de repos
- un test de tolérance à l'altitude (Richalet & Henry, 2003)
- un examen spirométrique

I.2.2. Sessions de tests et d'analyses d'avant et après entraînement

Dans la semaine précédent la phase d'entraînement, tous les sujets réalisent 3 tests d'effort maximaux sur tapis roulant, dont un en altitude simulée (3000 m). Ces tests sont espacés d'au moins 24 h. Une biopsie musculaire du vaste latéral est également réalisée avant et après entraînement pour étudier la fonction mitochondriale, et quantifier les ARNm sélectionnés.

1.2.2.1. Les évaluations à l'effort

1.2.2.1.1. Matériels utilisés

Tapis roulant

Les tests et l'entraînement se déroulent sur un tapis roulant Gymrol 2500 SP (Techmachine, France) avec 0% de pente.

Mesure des échanges gazeux

Lors de chaque test, les fractions en O₂ et CO₂ dans l'air inspiré (FiO₂ et FiCO₂) et expiré (FeO₂ et FeCO₂) ainsi que la \dot{V}_E sont mesurées en continu à partir d'analyses et de prélèvements d'air inspiratoire et expiratoire. Avant chaque test, le pneumotachographe (mesure de la \dot{V}_E) est calibré avec une seringue de volume connu (3L). De même, les analyseurs de gaz (mesure de FiO₂, FeO₂, FiCO₂ et FeCO₂) qui fonctionnent en cycle à cycle (Sensor Medics MSE, Yorba Linda, Etats-Unis) sont calibrés à partir de gaz de référence dont les concentrations en O₂ et CO₂ sont connues (O₂ 12% et CO₂ 5%). A partir de ces informations, la $\dot{V}O_2$ peut être calculée pour chaque cycle respiratoire selon la formule suivante: $\dot{V}O_2 = \dot{V}_E \times (FiO_2 - FeO_2)$.

La fréquence cardiaque (FC)

Durant tous les tests et les séances d'entraînement, la FC est mesurée à l'aide d'un caridréquencemètre par télémétrie (Vantage NV, Polar, Kempeley, Finlande). Durant les séances de test, un électrocardiogramme est également suivi en permanence par télémétrie (Cardiolife 6021, Nihon Kohden, Tokyo, Japon).

La saturation en O₂

Durant chaque test, la saturation de l'hémoglobine est mesurée au moyen d'un oxymètre de pouls (Oxypleth, Novamatrix-Medical System Inc, Etats-Unis), au niveau du lobe de l'oreille préalablement vasodilaté.

Dosages sanguins

Un prélèvement sanguin est réalisé dans une veine du pli du coude au repos avant l'effort le premier jour des évaluations physiques, avant et après la période d'entraînement. L'hématocrite ainsi que la concentration sanguine en hémoglobine sont mesurés (ABL 700 Series, Radiometer, Danemark).

Lors de chaque test, des prélèvements sanguins sont effectués au niveau du lobe de l'oreille préalablement vasodilaté, afin de déterminer la lactatémie par méthode enzymatique (Chiron-Diagnostics Series 800, Bayer, Puteau, France)

La simulation de l'altitude : l'hypoxie normobare

L'hypoxie normobare est utilisée pour simuler l'altitude de 3 000m lors des séances d'entraînement "contrôlées" du groupe HYP, et pour les tests réalisés en altitude. L'altitude de 4800 m est utilisée pour le test de tolérance à l'altitude. Cette méthode permet de simuler l'altitude en enrichissant l'air inspiré d'un gaz inerte (azote), ne participant pas aux échanges gazeux, permettant de baisser la fraction d'O₂ dans l'air inspiré (AltiTrainer200, Sport and Medical Technologie, Suisse). Le mélange de l'azote à l'air ambiant se réalise dans une chambre de mélange dont il est possible de régler précisément la PO₂ (± 0.82 mmHg), et donc simuler à loisir les altitudes comprises entre 0 et 5 500m. Les athlètes peuvent alors respirer cet air "modifié" à travers un masque connecté à l'appareil (cf Fig 9).

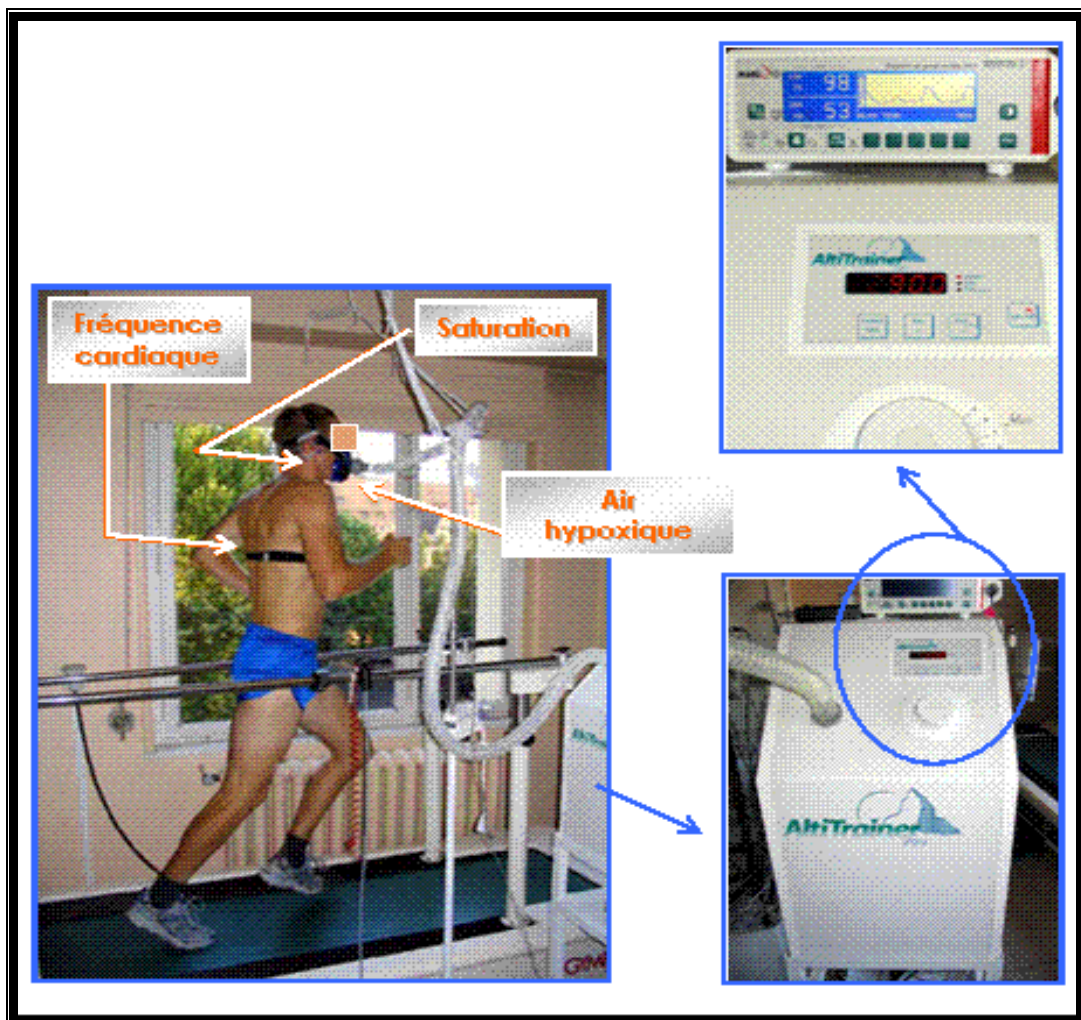


Figure 9: Montage expérimental utilisé pour simuler l'altitude pendant les tests d'effort et les séances d'entraînement

I.2.2.2. Les tests de détermination de $\dot{V}O_{2\max}$

Avant et après entraînement, tous les athlètes réalisent deux épreuves d'effort maximales et progressives, l'une en normoxie, l'autre en altitude simulée (3 000m). La vitesse de course de départ est fixée à 10 km.h⁻¹ pendant 2 min puis progressivement augmentée de 1 km.h⁻¹ toutes les 2 min, jusqu'à épuisement de l'athlète. Tous les athlètes sont vigoureusement encouragés à produire un effort maximal. Ces 2 tests permettent de déterminer:

- l'économie de course, à partir de la $\dot{V}O_2$ mesurée à 12 km.h⁻¹ en normoxie et en altitude simulée ainsi qu'à 18 km.h⁻¹ en normoxie et 15 km.h⁻¹ en altitude simulée.
- SV_1 , SV_2 et $\dot{V}O_{2\max}$ en normoxie et en altitude simulée pour chaque athlète avant et après entraînement. SV_1 et SV_2 sont localisés à partir des équivalents respiratoires en O₂ et en CO₂. En parallèle, les vitesses de course associées à ces paramètres (vSV_1 , vSV_2 , $v\dot{V}O_{2\max}$) sont également établies dans les 2 conditions de disponibilité de l'O₂. vSV_2 en normoxie et en altitude simulée est ensuite utilisée pour les séances d'entraînement "contrôlées" du groupe HYP et NOR respectivement.
- la lactatémie, à partir d'échantillons sanguins prélevés au repos et à l'effort maximal (1^{ère}, 3^{ème} et 5^{ème} minute de récupération).

I.2.2.3. Les tests de temps de maintien

Ce test est effectué en normoxie avant et après l'entraînement. Après un échauffement de 10 min à 60% de $v\dot{V}O_{2\max}$, une période de récupération passive est observée pour retrouver les valeurs de $\dot{V}O_2$ basales et équiper le sujet. Ensuite, en moins de 30 sec, les athlètes sont amenés à leur $v\dot{V}O_{2\max}$ qu'ils doivent maintenir jusqu'à épuisement. La vitesse de course utilisée n'a pas été modifiée après entraînement et le test réalisé après entraînement est effectué à la même vitesse absolue et non relative. Au cours de ce test, les paramètres suivants sont identifiés:

- le Tlim: correspondant au temps d'épuisement de l'athlète entre le départ du test et l'épuisement.
- la cinétique de $\dot{V}O_2$: à partir des techniques de régression non linéaire présentées plus haut.
- la lactatémie, à partir d'échantillon sanguins prélevés au repos et à l'effort maximal (1^{ère}, 3^{ème} et 5^{ème} minute de récupération).

I.2.2.3. Etude de la fonction mitochondriale et quantification des ARN messagers

I.2.2.3.1. Prélèvement de vaste latéral

La microbiopsie musculaire est toujours réalisée avant les évaluations à l'effort, tant avant qu'après entraînement. Un délai minimum de 48 h sans activité physique est respecté avant sa réalisation. La microbiopsie musculaire est obtenue par voie transcutanée (méthode de Bergström), après anesthésie intradermique (0,2 ml de Xylocaïne) et incision de la peau sur 5 mm (Bergstrom, 1962). Chaque prélèvement permet d'obtenir entre 50 et 100 mg de muscle dans la majorité des cas. Les échantillons musculaires prélevés sont immédiatement placés dans une solution à 4°C mimant le milieu intracellulaire (solution S). Une partie est congelée directement dans de l'azote liquide (quantification des ARN messagers) et l'autre est directement utilisée pour les mesures de respiration mitochondriale. Toutefois, pour 3 sujets, la quantité de muscle prélevée a été insuffisante pour mener à bien l'étude de la fonction mitochondriale et la quantification des ARN messagers. Ces résultats sont donc disponibles pour seulement 15 sujets.

I.2.2.3.2. Perméabilisation des fibres et mesures de la respiration mitochondriale

La respiration mitochondriale est étudiée *in situ*, sur fibres perméabilisées à la saponine (Veksler *et al.*, 1987). Les fibres, immergées dans la solution S à 4 °C, sont séparées sous microscope binoculaire, puis perméabilisées dans un bain de saponine (50µg/ml) à 4°C sous agitation pendant 30 min. Ensuite, elles sont rincées (toujours à 4°C et sous agitation), afin d'éliminer la saponine et l'ADP libre dans le cytosplasme. A partir de cette étape, les fibres sont placées dans des chambres de respiration thermorégulées à 22 °C, pour mesurer leur vitesse de consommation d'O₂ par polarographie à l'aide d'électrodes de Clark reliées à un oxygraphe de haute résolution (Strathkelvin Instruments, Glasgow, Scotland). Dès leur mise en place dans la chambre de respiration, une consommation d'O₂ apparaît en l'absence d'ADP, correspondant à la somme des consommations d'O₂ causées par les électrodes (\dot{V}_i) et par les fibres au repos (\dot{V}_0). La respiration mitochondriale (consommation d'O₂ mitochondriale) est ensuite stimulée par l'ajout de doses croissantes d'ADP (10-2000 µM) dans le milieu de respiration, avec ou sans la présence de créatine (20 mM). L'évolution des vitesses de respiration en fonction de la concentration en ADP suit une cinétique de Michaelis-Menten (mono exponentielle), autorisant sa modélisation mathématique par régression non linéaire (cf Fig 10). Des paramètres quantitatifs et qualitatifs descriptifs des caractéristiques de la respiration mitochondriale sont

alors déterminés (N'Guessan *et al.*, 2004). Pour notre propos, ceux-ci correspondent essentiellement à :

- \dot{V}_{\max} : elle correspond à la vitesse maximale de respiration de l'échantillon musculaire analysé. Elle est considérée comme un témoin des capacités oxydatives maximales des fibres étudiées.
- la constante de Michaelis-Menten (K_m) pour l'ADP: elle correspond à la concentration d'ADP nécessaire pour atteindre la moitié de $(\dot{V}_{\max} - \dot{V}_0)$, avec ou sans créatine (K_{m+Cr} ou K_{m-Cr}). Ces paramètres sont inversement proportionnels à la sensibilité de la respiration mitochondriale à l'ADP. Plus le K_m est élevé, moins les mitochondries, qui sont maintenues dans leur contexte architectural, sont sensibles à l'ADP externe et inversement.

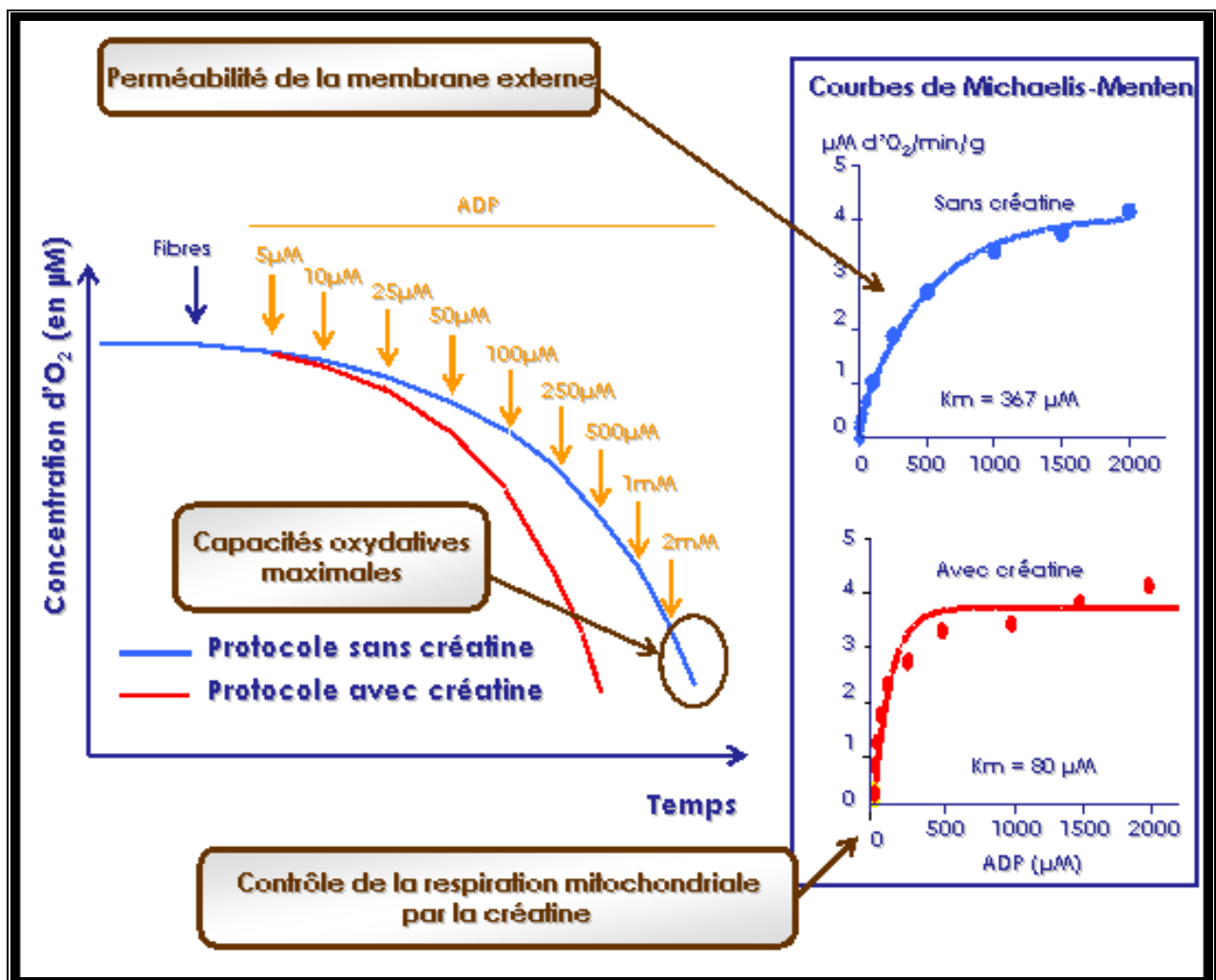


Figure 10: Protocole expérimental utilisé pour établir les paramètres de la respiration mitochondriale in situ. A gauche, l'évolution de la concentration en O_2 dans la chambre de respiration en fonction de la concentration croissante d'ADP pour la détermination de la \dot{V}_{\max} . A droite, les modélisations des vitesses de respiration mesurées en fonction de la concentration d'ADP en présence (K_{m-Cr}) ou absence (K_{m+Cr}) de créatine.

I.2.2.3.2. Quantification des ARN messagers

Cette étude a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Professeur Hans Hoppeler du Département d'Anatomie à l'Université de Berne, Suisse. Brièvement, l'ARN total est extrait des échantillons musculaires (RNeasy minikit, Qiagen AG, Bâle, Suisse). Après extraction, la concentration totale d'ARN présente dans l'échantillon est estimée (RiboGreen RNA, Molecular probes, JURO, Lucerne, Suisse), et son intégrité est vérifiée sur gel (Fluck *et al.*, 2003). L'ARN est ensuite reverse transcrit (Omniscript Reverse Transcriptase kit, Qiagen AG, Bâle, Suisse). L'ADNc ainsi obtenu est amplifié par PCR (polymerase chain reaction) en temps réel (SYBRGreen, PE Biosystem, Rotkreuz, Suisse), et les primers correspondant aux gènes cibles à quantifier sont développés à l'aide d'un logiciel spécifique (Primer Express software, PE Biosystem, Rotkreuz, Suisse). Tous les ARN messagers (ARNm) obtenus sont exprimés par rapport à un ARNm de référence, considéré comme stable (28S), et leur quantité est calculée à l'aide d'une méthode de comparaison spécifique tenant en compte l'efficacité de chaque primer (ABI Prism 7700 Sequence Detection System).

I.2.5. Protocole d'entraînement

La période d'entraînement dure 6 semaines et est conçue pour minimiser les perturbations imposées à l'entraînement habituel des athlètes. Ainsi, seules 2 séances/sem sont réalisées sur tapis roulant au laboratoire dont l'intensité est fixée à SV_2 , alors que le reste de l'entraînement est effectué sur le terrain, en dehors du laboratoire. Pour le groupe HYP, les séances "contrôlées" au laboratoire sont réalisées en altitude simulée (3000 m), et la vitesse établie à vSV_2 d'altitude. Pour le groupe NOR, ces séances sont réalisées en normoxie à la vSV_2 mesurée en normoxie. Lors de la première séance, la FC d'exercice est identique dans les 2 groupes, exprimée de manière absolue (HYP: 166 ± 3 vs. NOR: 172 ± 3 bpm) ou relative (HYP: 96 ± 1 % vs. NOR: 94 ± 1 % FCmax). L'organisation et la durée des séances "contrôlées" à vSV_2 sont identiques dans les 2 groupes. Chaque séance "contrôlée" débute par un échauffement de 10 min à $60\% v\dot{V}O_{2\max}$, suivi de 2 périodes courues à vSV_2 entrecoupées par 5 min de récupération à 60% de $v\dot{V}O_{2\max}$. Les séances s'achèvent par 15 min de récupération à 60% de $v\dot{V}O_{2\max}$. Tous les échauffements et les récupérations sont effectués en normoxie, quelque soit le groupe considéré. La période d'entraînement est organisée en 2 cycles de 3 semaines, à l'intérieur desquels la durée des périodes courues à vSV_2 est progressivement augmentée par tranche de 4 min. Après 3 semaines, vSV_2 est réévaluée pour retrouver des valeurs de FC identiques à celles de la première séance.

Seul le groupe HYP a dû augmenter sa vitesse à vSV_2 ($0,4 \pm 0,1 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$). De manière générale, l'entraînement s'organise de la manière suivante:

- semaine 1: $2 \times 12 \text{ min}$
- semaine 2: $2 \times 16 \text{ min}$
- semaine 3: $2 \times 20 \text{ min}$
- semaine 4: $2 \times 12 \text{ min}$ à vSV_2 réévaluée pour obtenir une FC identique à la semaine 1
- semaine 5: $2 \times 16 \text{ min}$ à vSV_2 réévaluée
- semaine 6: $2 \times 20 \text{ min}$ à vSV_2 réévaluée

Durant les 6 semaines d'entraînement, tous les athlètes tiennent à jour un carnet d'entraînement dans lequel ils reportent les détails des séances réalisées en dehors du laboratoire. Ces détails incluent la durée et la vitesse des séances, laquelle est répartie en 4 zones d'intensité: basse ($<vSV_1$), modérée (entre vSV_1 et vSV_2), haute (entre vSV_2 et $v\dot{V}O_{2\text{max}}$) et sévère ($>v\dot{V}O_{2\text{max}}$). Ces renseignements permettent une analyse quantitative et qualitative des stimuli mécaniques de la charge d'entraînement totale (terrain+laboratoire) réalisée par les athlètes. Au niveau quantitatif, les groupes HYP et NOR ont réalisé respectivement $33,0 \pm 0,6$ et $31,2 \pm 1,7$ (moyenne \pm SEM) sessions d'entraînement pour les mêmes durées et distances parcourues (HYP: $2013 \pm 114 \text{ min}$ et $478 \pm 27 \text{ km}$; NOR: $2083 \pm 165 \text{ min}$ et $510 \pm 37 \text{ km}$). La vitesse moyenne est équivalente pour les 2 groupes (HYP: $14,3 \pm 0,2 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ vs. NOR: $14,2 \pm 0,2 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$). Au niveau qualitatif, la contribution de chaque zone d'intensité au temps total d'entraînement est identique dans les 2 groupes, tant en zone basse (HYP: $72.7 \pm 1.8\%$ vs. NOR: $68.7 \pm 4.2\%$), qu'en zone modérée (HYP: $4.9 \pm 1.4\%$ vs. NOR: $9.7 \pm 1.9\%$), haute (HYP: $21.0 \pm 1.0\%$ vs. NOR: $21.4 \pm 2.8\%$) ou sévère (HYP: $1.3 \pm 0.5\%$ vs. NOR: $0.3 \pm 0.1\%$). La durée totale d'exposition à l'altitude simulée pour les athlètes du groupe HYP est de 384min sur les 6 semaines d'entraînement et très bien tolérée, avec des saturations artérielles en O_2 moyennes stabilisées à $80 \pm 1\%$ pendant les séances en altitude.

2EME ETUDE : OPTIMISER LA GESTION DES INTENSITES D'EXERCICE EN ERGOCYCLE EXCENTRIQUE

II.1. Population et critères d'inclusion

8 sujets sains masculins participent à cette étude, validée par le C.C.P.P.R.B. d'Alsace. Les sujets sont exempts de traitement médical et de problèmes musculaires, tendineux ou articulaires et donnent leur consentement éclairé avant leur inclusion.

II.2. Protocole

Après l'évaluation clinique initiale, le protocole de cette étude s'organise autour d'une phase d'habituation et de 2 épreuves d'effort progressives sur ergocycle.

II.2.1. Evaluation clinique

Comme pour l'étude précédente, l'évaluation clinique vise à s'assurer de l'absence de contre-indications médicales à l'effort à partir des examens suivants:

- l'interrogatoire et l'examen médical de repos
- le bilan anthropométrique: mesure du poids, de la taille, calcul du pourcentage de masse grasse par la méthode des 4 plis cutanés (Durnin & Womersley, 1974).
- l'électrocardiogramme de repos
- l'examen spirométrique

II.2.2. Protocole expérimental

II.2.2.1. Phase d'habituation

Afin de minimiser les problèmes musculaires, tendineux ou articulaires et acquérir la coordination spécifique à l'ergocycle excentrique, les sujets réalisent 2 semaines d'habituation pendant lesquelles 3-4 séances d'ergocycle excentrique sont réalisées séparées par 2-3 jours de récupération. Chaque séance consiste en 20 min de pédalage, débutant et finissant par 5 min en concentrique à une faible intensité, librement choisie par le sujet. Entre ces 2 périodes, les sujets

réalisent 10 min de pédalage excentrique, dont la puissance mécanique est progressivement augmentée, passant de 100 W à la première séance à 200 W à la dernière séance. Celle-ci est effectuée au moins 3 jours avant le premier test expérimental et ne doit pas générer de douleurs musculaires pour que les sujets entrent dans la phase expérimentale.

II.2.2.2. Sessions Expérimentales

Tous les sujets réalisent 2 épreuves d'effort progressives, identiques en termes de puissances mécaniques et de fréquences de pédalage (80 rpm). La première épreuve est réalisée en mode concentrique et la puissance mécanique est initialement fixée à 50 W pendant 3 min. Puis, la puissance mécanique est augmentée de 50 W/3 min jusqu'à l'épuisement du sujet. Après 48 h de récupération, les sujets réalisent la même épreuve en mode excentrique. Les puissances mécaniques sont rigoureusement identiques et le test s'achève lorsque le sujet atteint la puissance mécanique maximale atteinte en mode concentrique. Dans ces conditions, les puissances mécaniques atteintes à la fin du test excentrique restent sous-maximales.

II.2.3. Les paramètres analysés et les techniques utilisées

L'ergocycle excentrique

Tous les tests (pédalages concentrique et excentrique) sont réalisés dans la même position (réglages de siège et de repose-mains), sur le prototype d'ergocycle présenté plus haut.

Les échanges gazeux

$\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$ et \dot{V}_E sont mesurés cycle à cycle (Ergocard, Medi-Soft, Dinant, Belgium). Avant chaque test, le pneumotachographe est calibré avec une seringue de 3 L (model 5530, Hans Rudolph, Kansas City, Etats-Unis). Les analyseurs de gaz sont également calibrés à partir de gaz étalons dont la concentration en O_2 et en CO_2 est connue (12% O_2 et 5% CO_2).

Le débit cardiaque par impédancemétrie

Le VES est mesuré à l'aide d'un appareil de bioimpédance et la FC est obtenue simultanément grâce à un tracé électrocardiographique (PhysioFlow, Manatec type PF05L1, Paris, France). La détermination de la FC est basée sur la durée de l'intervalle R-R, mesurée à partir de la première dérivée du signal électrocardiographique, laquelle procure un signal plus stable que le signal

électrocardiographique en lui-même. Le débit cardiaque (\dot{Q}) est alors déterminé à partir de la formule suivante:

$$\dot{Q} = FC \times VESi \times \text{surface corporelle}$$

où \dot{Q} est exprimé en $L \cdot \text{min}^{-1}$, FC en bpm, VESi est le VES exprimé par unité de surface corporelle ($\text{ml} \cdot \text{m}^{-2}$) et la surface corporelle (m^2) est calculée à partir des formules de Haycock et al. (Haycock *et al.*, 1978). Avec cet appareil, une première mesure de VESi (VESical) est obtenue pendant la procédure de calibration basée sur 24 battements cardiaques consécutifs alors que le sujet est en position semi-assise sur l'ergocycle (Charloux *et al.*, 2000).

La lactatémie

Des prélèvements sanguins sont réalisés au lobe de l'oreille au repos et à la fin de chaque palier de 3 min pour déterminer la lactatémie (Chiron-Diagnostics Serie 800, Bayer, Puteau, France).

3EME ETUDE: CONTRIBUTIONS METABOLIQUES ET MECANIQUES AUX AJUSTEMENTS CIRCULATOIRES A L'EXERCICE

III.1. Population et critères d'inclusion

11 sujets sains masculins participent à cette étude. Les sujets sont exempts de traitement médical et de problèmes musculaires, tendineux ou articulaires et donnent leur consentement éclairé avant leur inclusion. Cette étude est financée par le Département de la Recherche Clinique de Strasbourg, avec accord du C.C.P.R.B. d'Alsace.

III.2. Protocole

III.2.1. Evaluation clinique

Pour cette étude, l'évaluation clinique comprend les examens suivants:

- l'interrogatoire et l'examen médical de repos
- le bilan anthropométrique: mesure du poids, de la taille, calcul du pourcentage de masse grasse par la méthode des 4 plis cutanés (Durnin & Womersley, 1974).
- l'électrocardiogramme et l'échocardiographie de repos
- l'examen spirométrique

III.2.2. Protocole expérimental

III.2.2.1. Phase d'habituatation

La phase d'habituatation est identique à celle de l'étude précédente.

III.2.2.1. Sessions expérimentales

Chaque sujet réalise 4 tests sur ergocycle à 60 rpm dans une ambiance climatisée, séparés par 24h de repos. La première séance expérimentale consiste en une épreuve d'effort progressive maximale en mode classique concentrique, débutant par 2 min de pédalage à 60 W et imposant une augmentation de 30 W/min jusqu'à épuisement des sujets. Cette épreuve permet de déterminer $\dot{V}O_{2\max}$, SV_1 et leurs puissances mécaniques associées ($p\dot{V}O_{2\max}$ et pSV_1). $p\dot{V}O_{2\max}$ et pSV_1 sont ensuite utilisées pour établir la puissance mécanique correspondant à Δ_{70} (Δ_{70}), localisée à $pSV_1 + 70\%$ de la différence entre pSV_1 et $p\dot{V}O_{2\max}$ ($\Delta_{70} = pSV_1 + 0,7 \times [p\dot{V}O_{2\max} - pSV_1]$).

Les 3 autres tests consistent en 4 min de pédalage à 15 W, suivies par 6 min de pédalage à puissance constante: i) à haute intensité en mode concentrique à Δ_{70} (HC); ii) à haute intensité en excentrique à Δ_{70} (HE); iii) à faible intensité en concentrique (LC), réalisée à la même $\dot{V}O_2$ que HE. En utilisant une approche réductionniste, ce protocole nous permet d'obtenir des conditions expérimentales dans lesquelles les ajustements circulatoires peuvent être associés à : 1) l'effet simultané des stimuli métaboliques et mécaniques, en comparant HC vs. LC; 2) l'effet spécifique des stimuli métaboliques, en comparant HC vs. HE; 3) l'effet spécifique des stimuli mécaniques, en comparant HE vs. LC.

III.2.3. Les paramètres analysés et les techniques utilisées

L'ergocycle excentrique, les échanges gazeux et le débit cardiaque

Ces techniques et mesures sont réalisées avec les mêmes méthodes que pour l'étude précédente.

L'activité musculaire par électromyographie

L'activité électrique des muscles vaste latéral, vaste interne et droit fémoral de la jambe droite est mesurée de manière continue à l'exercice avec la méthode décrite précédemment.

Analyses sanguines

Un cathéter est inséré dans une veine du pli du coude pour réaliser des prélèvements sanguins au repos, à la fin de la 4^{ème} minute de pédalage à 15W et à la 6^{ème} minute de pédalage actif. Ces échantillons permettent de déterminer la lactatémie (ABL 700 series, Radiometer, Danemark) et la concentration en catécholamines (Adrénaline et Noradrénaline) par chromatographie liquide à haute performance (Gilson Inc, Middleton, Etats-Unis) couplée à une détection électrochimique (Coulochem, ESA Biosciences Inc, Chelmsford, Etats-Unis).

RESULTATS

1ERE ETUDE : ENTRAINEMENT EN ALTITUDE INTERMITTENTE CHEZ L'ATHLETE

I.1. Effet sur la capacité de performance aérobie

I.1.1. Présentation

Depuis les années 60, il est établi que l'exposition à l'altitude chez l'homme induit des adaptations physiologiques impliquées dans l'apport d'O₂ au niveau systémique, facilitant son utilisation musculaire. En conséquence, l'idée d'utiliser l'exposition à l'altitude afin d'augmenter les stimuli métaboliques de l'entraînement chez les athlètes et tenter d'améliorer la performance aérobie, s'est progressivement développée. Toutefois, des effets délétères de l'exposition prolongées à l'altitude ont également été mis en évidence, incluant une nécessaire réduction de la charge mécanique d'entraînement réalisée par les athlètes (Hornbein & Schoene, 2001). De fait, les stimuli mécaniques générés par l'entraînement en altitude sont inférieurs à ceux générés par l'entraînement réalisé au niveau de la mer, ce qui complique l'utilisation efficace de l'altitude pour améliorer la performance aérobie. Dans ce contexte, différentes modalités d'utilisation de l'altitude ont été imaginées, pour tenter d'en maximiser les effets bénéfiques et d'en minimiser les effets délétères. Parmi ces modalités, il a été récemment proposé de n'inclure qu'un nombre limité de séances d'entraînement en altitude au sein de l'entraînement habituel des athlètes (entraînement en altitude intermittente, EAI). L'idée sous-jacente était d'introduire un stimulus métabolique additionnel dans l'entraînement des athlètes (via les séances en altitude) tout en minimisant les perturbations causées aux stimuli mécaniques de leur entraînement habituel (Vallier *et al.*, 1996; Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003; Roels *et al.*, 2005).

Les résultats actuels concernant l'EAI chez les athlètes sont très variables, certaines études suggérant un effet positif sur la capacité de performance aérobie (Vallier *et al.*, 1996; Roels *et al.*, 2005), mais ne sont pas toujours confirmés par d'autres (Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003). Une partie de ces différences est sans doute attribuable aux protocoles d'entraînement utilisés, très variables en terme de niveau d'hypoxie (altitude allant de 2500 à 4000 m), de durée (30 sec – 60 min) et d'intensité (50-85% de P_{max} hypoxique) des exercices en altitude. Collectivement, les données disponibles suggèrent qu'une durée minimale (>70 sec – 3 min) (Terrados *et al.*, 1988) ainsi qu'une intensité minimale (> 80 % $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique) (Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003) sont nécessaires lors des séances en altitude pour induire un effet positif sur les métabolismes aérobie et la performance des athlètes. Nous

proposons donc de tester l'hypothèse que 6 semaines d'EAI incluant 2 séances hebdomadaires en altitude modérée (3000 m), réalisées à SV_2 (environ 80% $\dot{V}O_{2\max}$ hypoxique) sur des périodes de 12-20 min pourraient répondre à ces critères, tout en limitant au mieux les perturbations imposées aux stimuli mécaniques générés par l'entraînement habituel des athlètes.

En dehors de ces considérations méthodologiques, les études antérieures se sont attachées à décrire l'impact de l'EAI sur la capacité de performance aérobie, principalement par des tests de performance (puissance mécanique moyenne développée sur 10min), par la détermination de $\dot{V}O_{2\max}$ et par l'évaluation des T_{lim} sous maximaux (Vallier *et al.*, 1996; Truijens *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003; Roels *et al.*, 2005). Dans ce contexte, les effets d'un programme d'EAI sur d'autres indices du fonctionnement des métabolismes aérobie restent largement inconnus, notamment en termes d'adaptations plus "qualitatives", telles que les seuils métaboliques ou la cinétique de $\dot{V}O_2$. Puisque $\dot{V}O_{2\max}$ et $v\dot{V}O_{2\max}$ sont considérés comme de bon prédicteurs de la capacité de performance aérobie d'un athlète (Padilla *et al.*, 1992; Billat & Koralsztein, 1996), nous proposons d'inclure cette étude la détermination de la cinétique de $\dot{V}O_2$ établie lors d'un T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ chez des athlètes.

Dans cette première étude, nos objectifs sont d'évaluer l'efficacité d'un programme d'EAI sur la capacité de performance aérobie d'athlètes entraînés. Pour cela, nous nous sommes intéressés à deux caractéristiques importantes des métabolismes aérobie : 1) les débits d'énergie métabolique qu'ils permettent de générer à travers la mesure de $\dot{V}O_{2\max}$ et de la $\dot{V}O_2$ aux seuils métaboliques: 2) la vitesse avec laquelle ils peuvent être mis en jeu, ainsi que le temps pendant lequel ils peuvent être soutenus, via la détermination de la cinétique de $\dot{V}O_2$ lors d'un T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$.

I.1.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article accepté pour publication

Exercise training in normobaric hypoxia in well-trained athletes: Improvements in sea-level endurance performance capacity. Accepté au Journal of Applied Physiology JAP-00742-2005.R1

Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners: Improvement in aerobic performance capacity

Stéphane P. DUFOUR,¹ Elodie PONSOT,¹ Joffrey ZOLL,² Stéphane DOUTRELEAU,¹ Evelyne LONSDORFER-WOLF,¹ Bernard GENY,¹ Eliane LAMPERT,¹ Martin FLUCK², Hans HOPPELER,² Véronique BILLAT,³ Bertrand METTAUER,^{1,4} Ruddy RICHARD¹ and Jean LONSDORFER¹

¹ *Département de Physiologie et des Explorations Fonctionnelles, Hôpital Civil, 67091 Strasbourg, France; et Institut de Physiologie, UPRES E.A. 3072, Faculté de Médecine, 67085 Strasbourg, France*

² *Institute of Anatomy, University of Bern, 3012 Bern, Switzerland*

³ *Laboratoire d'Etudes Physiologiques à l'Exercice, Département des Sciences du Sport et de l'Exercice, E.A. 3872, Université d'Evry Val d'Essonne, 91025 Evry, France*

⁴ *Service de Cardiologie, Hôpitaux Civils de Colmar, 68024 Colmar, France*

RUNNING HEAD: Intermittent hypoxia training and aerobic capacity

Address for reprint request and other correspondence:

Pr. Jean LONSDORFER,

Hôpital de la Robertsau, 83 rue Himmerich, BP 426, 67091 Strasbourg Cedex, France

Tel: 3 33 88 11 55 30

Fax: 3 33 88 11 55 26

(E-mail: jeanlonsdorfer@hotmail.fr)

KEY WORDS: intermittent hypoxia training; maximal oxygen uptake; time to exhaustion, competitive endurance runners

ABSTRACT

This study investigates whether a 6-wk intermittent hypoxia training (IHT) designed to avoid reductions in training loads and intensities, improves the endurance performance capacity of competitive distance runners. Eighteen athletes were randomly assigned to train in normoxia (NOR; $n=9$; maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2\max}=61.5\pm 1.1\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) or intermittently in hypoxia (HYP; $n=9$; $\dot{V}O_{2\max}=64.2\pm 1.2\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$). Into their usual normoxic training schedule, athletes included two weekly high-intensity (second ventilatory threshold, VT_2) and moderate duration (24-40 min) training sessions, performed either in normoxia ($FI_{O_2}=20.9\%$) or in normobaric hypoxia ($FI_{O_2}=14.5\%$). Before and after training, all athletes realized: (i) a normoxic and hypoxic incremental test to determine $\dot{V}O_{2\max}$ and ventilatory thresholds (VT_1 and VT_2), (ii) an all-out test at the pre-training minimal velocity eliciting $\dot{V}O_{2\max}$ to determine their time to exhaustion (T_{lim}) and the parameters of $\dot{V}O_2$ kinetics. Only the HYP group significantly improved $\dot{V}O_{2\max}$ (+5% at both FI_{O_2} , $P<0.05$), without changes in blood O_2 carrying capacity. Moreover, T_{lim} lengthened in the HYP group only (+35%, $P<0.001$), without significant modifications of $\dot{V}O_2$ kinetics. Despite similar training load, the NOR group displayed no such improvements, with unchanged $\dot{V}O_{2\max}$ (+1%, ns), T_{lim} (+10%, ns) and $\dot{V}O_2$ kinetics. In addition, T_{lim} improvements in the HYP group were not correlated with concomitant modifications of other parameters, including $\dot{V}O_{2\max}$ or $\dot{V}O_2$ kinetics. The present IHT model, involving specific high-intensity and moderate duration hypoxic sessions, may potentialize the metabolic stimuli of training in already trained athletes and elicit peripheral muscle adaptations, resulting in increased endurance performance capacity.

INTRODUCTION

At sea level, it is well known that the training-induced improvements in endurance performance progressively level-off as the aerobic fitness progresses. Therefore, the use of the metabolic stimulus provided by living (i.e. Living High-Training Low) or training at altitude (i.e. Living Low-Training High) has gained popularity in athletes to further enhance endurance performance. In this context, methods that impose short-term altitude exposure while exercising have progressively emerged to cope with the growing evidence that long term altitude exposure possesses several detrimental effects, including a limited aerobic power, reducing both the metabolic and mechanical components of the total training load (24). To conciliate altitude training with a maintained training load, it has recently been proposed to use altitude in several but not all training sessions, included into a training program otherwise performed in normoxia (Intermittent Hypoxia Training, IHT) (38, 44-46).

To date, these training programs have provided conflicting results in endurance athletes (38, 44, 46), which could be due to the various combinations of duration and intensity of the hypoxic training sessions employed (32). Accordingly, improvement of performance in competitive swimmers have not been observed after an IHT program including very short high-intensity (30-60s) hypoxic sessions (44), whereas longer periods of high-intensity hypoxic exercise (70s-3min) improved maximal power output at sea-level in professional cyclists (39). In addition, significant $\dot{V}O_{2\max}$ improvement at sea level have been reported in trained subjects after hypoxic exercise bouts of 2-12 min duration (38). Recent evidences also demonstrated no beneficial effects of IHT programs, when the hypoxic exercise intensity is set below 80% of normoxic $\dot{V}O_{2\max}$ (44, 46). Collectively, these findings point to a pivotal role for a minimal hypoxic exercise duration and intensity in IHT models, especially in trained athletes. Based on these observations, we assumed that two successive hypoxic training bouts, of 12-20min, performed at the second ventilatory threshold (VT_2) (~80% of normoxic $\dot{V}O_{2\max}$) are likely to comply with the above information.

Moreover, integrated within the usual normoxic training of competitive runners, the intermittent nature of such specific hypoxic sessions would allow maintaining high levels of total training load and may elicit significant improvement of endurance performance capacity.

Characterization of the endurance performance capacity in athletes involves incremental exercise testing allowing for the determination of the ventilatory thresholds (VT_1 and VT_2), $\dot{V}O_{2\max}$ as well as their associated minimal running velocities (vVT_1 , vVT_2 and $v\dot{V}O_{2\max}$). Additionally, since $v\dot{V}O_{2\max}$ falls among the significant predictors of endurance performance (4, 5), the time to exhaustion at $v\dot{V}O_{2\max}$ (T_{lim}) is thought to constitute an important determinant of the endurance performance capacity. Despite its athletic relevance, the effect of IHT program on T_{lim} in endurance athletes remains unknown. Since the maximal rate (i.e. $\dot{V}O_{2\max}$ or $v\dot{V}O_{2\max}$) (6, 23) and/or kinetic changes in the O_2 fluxes adjustment (13) are expected to contribute to T_{lim} performance, the possible influence of IHT on both of these respective properties of aerobic metabolism is also not elucidated.

Therefore, the purpose of this study was to test the hypotheses that an original IHT model, including two weekly moderate duration (24-40 min) and high-intensity (VT_2) hypoxic sessions within the usual normoxic training of already trained athletes: 1) improves running velocities at sea-level due to amelioration of aerobic energy provision, including $\dot{V}O_{2\max}$; 2) lengthens T_{lim} at sea-level with concomitant adaptations of aerobic metabolism properties, mainly $\dot{V}O_{2\max}$ and/or $\dot{V}O_2$ kinetics.

METHODS

Subjects

18 highly trained male distance runners were recruited from local athletic teams and completed the study before the beginning of their competitive season. Their main physical and physiological characteristics are shown in Table 1. After all the potential risks were explained, the

athletes gave a voluntary written consent to participate to the protocol, approved by our hospital's and national's review boards. In the weeks prior to and during the study, the subjects lived under the altitude of 300 m and were engaged in a regular training schedule comprising 5 training sessions per week, including two weekly training sessions performed specifically at VT₂ (49). Their respective individual training schedule remains unaltered during the experimental period. All were highly motivated to participate in the study, familiar with treadmill running, and with current 10,000 m or equivalent personal-best times of < 35:00 (min:s).

Experimental Design

As shown in Fig. 1, the study was organized in four successive phases: a basal medical examination, the pre-training treadmill performance evaluation, the training process and the post-training treadmill performance evaluation.

Basal medical examination: Two weeks before the beginning of the training period, each subject came to the laboratory for anthropometric measurements, physical examination, resting electrocardiography and echocardiography recordings. In order to verify their exercise and hypoxic tolerance under careful cardiac monitoring, all athletes also performed maximal graded cycle tests in normoxia and hypoxia. These tests did not reveal any abnormality that could prevent the subjects to be included in the experimental protocol.

Pre and Post training treadmill performance evaluation: In the week before and after the training intervention, all the subjects performed three exercise tests on a motorized treadmill (Gymrol 2500 SP, Tecmachine, France). The tests were separated by at least 24h of rest: 1) a treadmill incremental test to exhaustion in normoxia (IET_N; FI_{O₂} = 20.9%); 2) a treadmill incremental exercise test to exhaustion in hypoxia (IET_H; FI_{O₂} = 14.5%, equivalent to an altitude of 3,000m); 3) a normoxic all-out test at pre-training $\dot{V}O_{2\max}$. For a given subject, all tests were performed at the same time of day in a climate-controlled environment (21-23° C).

Training program: During the 6 weeks of the study, both groups continued their usual training program (5 sessions a week) including their two weekly sessions at VT_2 that were performed in the laboratory. All the laboratory training sessions were performed under careful supervision of an experimented physician. For the group who trained in normoxia (NOR), VT_2 was determined during the IET_N and for the group who trained in hypoxia (HYP), VT_2 was determined during the IET_H . Each VT_2 sessions begun by 10-min warm-up at 60% $\dot{V}O_{2\max}$ ($<VT_1$), followed by two periods at VT_2 (time run at VT_2 specified in Fig.1), separated by 5-min recovery at 60% $\dot{V}O_{2\max}$. For the HYP group, the subjects trained under hypoxic conditions only during the running periods at VT_2 by breathing through face masks connected to a mixing chamber via appropriate tubing. Warm-up and recoveries were performed under normoxia. The training load during the laboratory sessions was organized in two 3-wk periods in which the exercise duration at VT_2 increased progressively (Fig.1). At the 4th week, the training velocity was readjusted to maintain an exercise HR corresponding to the one achieved at the first training session. Throughout the study, each athlete underwent a total of 12 controlled laboratory training sessions. No athletes withdraw from the study before the achievement of the post-training treadmill performance evaluation and none complained from health complications throughout the study.

Procedures

Altitude simulation: Normobaric hypoxic conditions corresponding to an altitude of 3,000 m ($F_{IO_2}=14.5\%$) were simulated by diluting ambient air with nitrogen via a mixing chamber, the dilution being constantly controlled by a PO_2 probe (Alti-Trainer₂₀₀, Sport and Medical Technology, Switzerland). This device allows the inspired PO_2 to be set at a pre-determined value to simulate altitude. The precision of the PO_2 is of ± 0.82 mmHg. The respiratory effort induced by the device at $6\text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$ was negligible (less than 0.01 W).

Treadmill tests. The IET_N or the IET_H were performed in random order on a motorized treadmill with 0% slope, to determine VT_1 , VT_2 , $\dot{V}O_{2\max}$, the associated velocities and the running economy

(RE) in both conditions of oxygen availability. During each IET, the initial running speed was set at 10 km/h and increased by 1 km/h every 2-min until volitional exhaustion. Each subject was encouraged to give a maximum effort. Arterialized blood samples were obtained from earlobe at rest, at exhaustion, as well as at the first and third minute of recovery to determine total blood lactate concentration.

The all-out running test was performed in normoxia at pre-training $v\dot{V}O_{2\max}$, i.e. the same absolute running speed before and after training. The test began by 10-min warm-up at 60% of the subject's $v\dot{V}O_{2\max}$ (lower than vVT_1 in all subjects). The subjects were then connected to the test equipments during a 5-min period of rest and immediately asked to run at their individual $v\dot{V}O_{2\max}$ for as long as possible. The transition from rest to $v\dot{V}O_{2\max}$ occurs within a 20 sec delay (range 17-23 sec), necessary for the treadmill to reach the desired speed. No information about the time elapsed was provided to the athletes. During this test, arterialized blood samples were obtained from earlobe at rest, at exhaustion, as well as at the first and third minute of recovery to determine total blood lactate concentration.

Heart rate monitoring: During all the running tests as well as during the controlled training sessions, heart rate (HR) was continuously monitored by telemetry (Polar Vantage NV, Kempeley, Finland)

Gas exchange measurements: During all tests, inspiratory and expiratory minute ventilation (\dot{V}_I, \dot{V}_E), $\dot{V}O_2$ and carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$) were measured breath-by-breath with an open-circuit metabolic cart with rapid O_2 and CO_2 analyzers (Sensor Medics MSE, Yorba Linda, CA, USA). Before each individual exercise test, the pneumotachograph was calibrated with several strokes given by a 3-L calibration syringe. The gas analyzers were calibrated using reference gases with known O_2 and CO_2 concentrations (12% O_2 , 5% CO_2). Fraction of O_2 in the inspired ($F_I O_2$) and expired ($F_E O_2$) air were analyzed continuously for each breath. Therefore, $\dot{V}O_2$ was calculated in normoxia and hypoxia by the following formula, where all parameters are expressed in STPD conditions: $\dot{V}O_2 = \dot{V}_I \times F_I O_2 - \dot{V}_E \times F_E O_2$.

During the IET, each athlete was encouraged to give a maximal effort. Peak treadmill velocity (V_{peak}) was defined as the last achieved running speed sustained at least 30 sec. $\dot{V}O_{2\text{max}}$ was always defined as the highest 30-s averaged $\dot{V}O_2$ value. As previously described by Billat et al. (4), $v\dot{V}O_{2\text{max}}$ was defined as the minimal velocity at which $\dot{V}O_{2\text{max}}$ occurred. In details, if $\dot{V}O_{2\text{max}}$ was reached during the last stage, which was maintained >90 sec, that particular velocity was taken as $v\dot{V}O_{2\text{max}}$. If that velocity eliciting $\dot{V}O_{2\text{max}}$ was sustained <60 sec, then $v\dot{V}O_{2\text{max}}$ was taken as the velocity at the previous stage. If that velocity eliciting $\dot{V}O_{2\text{max}}$ was maintained between 60 and 90 sec, then $v\dot{V}O_{2\text{max}}$ was considered to be equal to the velocity during the previous stage plus the half velocity increase between the last two stages, i.e. $1 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}/2 = 0.5 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ (29). Ventilatory thresholds were assessed using established criteria (3, 49). VT_1 corresponds to the breakpoint in the plot of $\dot{V}CO_2$ as a function of $\dot{V}O_2$. At that point, the ventilatory equivalent for O_2 ($\dot{V}E/\dot{V}O_2$) increases without an increase in the ventilatory equivalent for CO_2 ($\dot{V}E/\dot{V}CO_2$). VT_2 was located between VT_1 and $\dot{V}O_{2\text{max}}$, when $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ starts to increase while $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ continues to increase. The oxygen pulse ($O_2\text{-p}$) was calculated as the ratio between $\dot{V}O_2$ and HR, also representing stroke volume times arteriovenous oxygen difference ($\Delta a\text{-v}O_2$) (30). Running economy (RE) was defined as the rate of $\dot{V}O_2$ for a given submaximal work rate (9). Therefore, RE corresponds to the 1min average of the $\dot{V}O_2$ values recorded at the end of the $12 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ stage during each IET. This speed was lower than SV_1 for all the subjects in both environmental conditions and allows an estimation of RE for an exercise intensity expected to be mainly aerobic. To provide additional insights in the effect of IHT on RE, we also determined RE at $18 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ in IET_N and at $15 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ in IET_H . These running speeds amounted to about 92% and 90% of the respective normoxic and hypoxic $v\dot{V}O_{2\text{max}}$, corresponding to recommended speed for RE determination in athletes (10).

Blood O_2 carrying capacity and lactate. On the first day of the treadmill performance evaluation before and after training, blood was drawn from an antecubital vein in each group to immediately

measure hematocrit (Hct) and hemoglobin concentration ([Hb]). Earlobe blood samples obtained during all running tests were also immediately analyzed for total blood lactate concentration by an enzymatic method.

Oxygen saturation. During each exercise test, hemoglobin saturation (SaO₂) was monitored continuously by earlobe pulse oximetry (Oxypleth, Novamatrix-Medical System Inc, USA).

$\dot{V}O_2$ kinetics

Data modelization. To describe the $\dot{V}O_2$ kinetics [$\dot{V}O_2(t)$] during the all-out test, we used a mathematical model with two exponential functions (2):

$$\begin{aligned} \dot{V}O_2(t) = & \dot{V}O_{2b} \\ & + A_1(1 - e^{-(t - td_1/\tau_1)})U_1 \text{ [Phase 2 (fast component)]} \\ & + A_2(1 - e^{-(t - td_2/\tau_2)})U_2 \text{ [Phase 3 (slow component)]} \quad \text{Eq. 1} \end{aligned}$$

where $U_1 = 0$ for $t < td_1$ and $U_1 = 1$ for $t \geq td_1$; $U_2 = 0$ for $t < td_2$ and $U_2 = 1$ for $t \geq td_2$; $\dot{V}O_{2b}$ is the rate of $\dot{V}O_2$ at rest before the start of the all-out test; A_1 and A_2 are the asymptotic amplitudes for the first and second exponential terms respectively; τ_1 and τ_2 are the time constant and represent the time to reach 63% of the total amplitude of the respective fast and slow $\dot{V}O_2$ components; td_1 and td_2 represent the time delays for the fast and the slow components. As the initial cardiodynamic phase of the $\dot{V}O_2$ adjustment to a rest-to-exercise transition does not influence the fast component of $\dot{V}O_2$ (36), and because we focused on the fast and slow components of the $\dot{V}O_2$ response, the cardiodynamic phase was excluded from analysis by removing the data from the first 20-s of the all-out test. The parameters of the model were determined with an iterative procedure that minimizes the sum of the mean squares of the differences between the model $\dot{V}O_2$ estimates and the corresponding $\dot{V}O_2$ measurements. To exclude aberrant breaths from analysis, breath-by-breath $\dot{V}O_2$ values that were greater than three standard deviations from the modeled $\dot{V}O_2$ were removed

and assumed to represent events unrelated to the physiological response of interest (31, 39). These values represented less than 1% of the total data.

Slow component of $\dot{V}O_2$ kinetics. Because the asymptotic value of the second exponential term is not necessarily reached at the subject's exhaustion, the amplitude of the slow component was computed as A'_2 (7):

$$A'_2 = A_2[1 - e^{-(T_{lim} - td_2)/\tau_2}] \quad \text{Eq. 2}$$

where T_{lim} is the time at the end of the all-out exercise test. Moreover, in order to compare the amplitude of the $\dot{V}O_2$ slow component at consistent time before and after training, we also calculated the amplitude of the $\dot{V}O_2$ slow component achieved post-training when the subject attained their pre-training T_{lim} value (A'_2 old).

O_2 deficit calculation. According to Whipp and Ozyener (51), the fast component of the $\dot{V}O_2$ kinetics represent an “expected oxygen uptake” whereas the slow component is the manifestation of an “excess oxygen uptake” occurring later during exercise (i.e. after td_2). Consequently, the oxygen deficit (O_{2def}) is estimated from the area between the fast component response curve and the fast component asymptote (13):

$$O_{2def} = (td_1 \times A_1) + (\tau_1 \times A_1) \quad \text{Eq. 3}$$

where O_{2def} is the oxygen deficit (ml) and td_1 (s), τ_1 (s) and A_1 ($ml \cdot s^{-1}$) are respectively the time delay, time constant and the asymptotic amplitude of the fast component of the $\dot{V}O_2$ kinetics.

Computation of the time sustained at pre-training $\dot{V}O_{2max}$. Besides T_{lim} , that could be considered as a mechanical parameter of endurance performance (reflecting the total mechanical work performed at $v\dot{V}O_{2max}$), we also calculated a metabolic correlate (Eq. 4), from the time sustained while the athlete ran at >95% of pre-training $\dot{V}O_{2max}$ ($T_{lim}@ \dot{V}O_{2max}$). This percentage was chosen to account for a 5% random error in the determination of $\dot{V}O_{2max}$ (33) and also because all athletes did not necessarily reach 100% $\dot{V}O_{2max}$ in T_{lim} testing (13).

$$T_{lim}@ \dot{V}O_{2max} \text{ (s)} = T_{lim} - TA \dot{V}O_{2max} \quad \text{Eq. 4}$$

where T_{lim} represents the time to exhaustion while the athletes ran at the pre-training minimal velocity associated with $\dot{V}O_{2\ max}$ (s) and the time to attain $\dot{V}O_{2\ max}$ ($TA\ \dot{V}O_{2\ max}$) correspond to the time necessary to reach 95% of pre-training $\dot{V}O_{2\ max}$ (s). Depending if the $\dot{V}O_2$ kinetics was better described by a mono or a double exponential model, $TA\ \dot{V}O_{2\ max}$ was computed from the equations below:

1. For the mono-exponential model (Fast component in *Eq. 1*)

$$TA\ \dot{V}O_{2\ max} = td_1 - \tau_1 \times \{ \ln [1 - (0.95 \times \dot{V}O_{2\ max} - \dot{V}O_{2\ b}) / A_1] \}$$

2. For the double-exponential model (Fast + Slow component in *Eq. 1*)

$$TA\ \dot{V}O_{2\ max} = td_2 - \tau_2 \times \{ \ln [1 - (0.95 \times \dot{V}O_{2\ max} - \dot{V}O_{2\ b} - A_1) / A_2] \}$$

Evaluation of training

All athletes were asked to report their individual training schedule into detailed training logs including duration, distance and intensity of each training sessions. Laboratory as well as field work bouts were taken into account in order to provide both quantitative and qualitative characterization of the overall training load. Duration and intensity of the training sessions performed out of the laboratory were assessed based on the running velocity spread out in four intensity zones: low ($<vVT_1$), moderate ($vVT_1 - vVT_2$), heavy ($vVT_2 - v\ \dot{V}O_{2\ max}$) and severe intensity ($> v\ \dot{V}O_{2\ max}$).

Statistics

Whether a mono or bi-exponential model better described the $\dot{V}O_2$ kinetics during the all-out tests was determined using a Fisher test. We used the bootstrap method to obtain an estimation of the accuracy of the parameters describing the $\dot{V}O_2$ kinetics (7, 8, 17). This method, creating 1,000 different samples of the same size than the original data set, allows the determination of a coefficient of variation (CV) for each mathematical parameter on an individual basis.

Data were first tested for distribution normality and variance homogeneity. Subsequently, the differences between groups before the training period were analyzed with the Mann-Whitney procedure. To test for both treatment (hypoxia vs. normoxia) and time (before vs. after) effects on each of the measurements during the training period, we used a two-way ANOVA for repeated-measures. When significant modifications were found, the Student-Neuman-Keuls post hoc procedure was performed to localize the difference. Pearson linear regression analysis was used to determine any potential linear relationship between variables. All statistical analyses were performed with the SigmaStat 3.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL) and the level of significance was chosen for $P < 0.05$. Values are means \pm SEM.

RESULTS

The anthropometric and treadmill performance characteristics of the athletes are shown in Table 1. No significant differences were reported between the two experimental groups before the training period. Moreover, in both groups, the training period did not modify anthropometric and blood parameters, including body mass (HYP after: 70.5 ± 2.2 kg, ns; NOR after: 71.3 ± 2.2 kg, ns) hemoglobin (HYP after: 15.8 ± 0.5 g/dl, ns; NOR after: 15.7 ± 0.5 g/dl, ns) and hematocrit (HYP after: $46.4 \pm 1.5\%$, ns; NOR after: $46.9 \pm 1.2\%$, ns).

Training load

Laboratory training sessions: at the beginning of the study and according to the training environment, the HYP group trained at a significantly lower running speed (Table 2). These different running speeds corresponded to the same exercise heart rate (HR), whether expressed in absolute (HYP: 166 ± 3 vs. NOR: 172 ± 3 bpm; ns) or in relative value (HYP: 96 ± 1 % vs. NOR: 94 ± 1 %; ns). During the first VT₂ training session in the HYP group, blood oxygen saturation stabilized at a value of $80 \pm 1\%$. At the 4th week, the running speed of the VT₂ bouts was increased by 0.4 ± 0.1

$\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ for the HYP group, but not modified for the NOR group. As a result, HR values remained unaltered throughout the 6-wk intervention in both groups as it was the case for blood oxygen saturation in the HYP group. For the HYP group, the total duration of hypoxic exposure amounted to 384 min (i.e. week1+week2+...+week6) and was well tolerated.

Total training load: the total training load (i.e. field and laboratory training sessions) was comparable in both groups. During the 6-wk training, HYP and NOR groups performed respectively 33.0 ± 0.6 and 31.2 ± 1.7 training sessions, leading to no difference in total training time and total training distance (HYP: 2013 ± 114 min and 478 ± 27 km vs. NOR: 2095 ± 158 min and 498 ± 40 km). Consequently, the averaged running speed over the 6 weeks training intervention was similar in both groups (HYP: 14.3 ± 0.2 $\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ vs. NOR: 14.2 ± 0.2 $\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$). No significant differences appeared either in total time or in total distance run in the respective intensity zones (Table 2).

Exercise capacity in hypoxia

Incremental exercise test: Table 3 and Fig. 2.1 report the effects of the 6-wk training upon results of the IET_H. Only the HYP group significantly improved submaximal and maximal running velocities (Table 3) under hypoxia. Indeed, $v\text{VT}_1$, $v\text{VT}_2$ and $v\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ increased respectively by +7%, +8% and +5% after IHT. The $\dot{V}\text{O}_2$ associated with these velocities improved in the same proportions by +7%, +7% and +5% (figure 2.1) but RE did not change. The $\text{O}_2\text{-p}_{\text{max}}$ improved (+5%) only in the HYP group after IHT (Table 3). Conversely, the NOR group demonstrated no improvement of all these parameters under hypoxic conditions.

Exercise capacity in normoxia

Incremental exercise test: $v\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ improved significantly by +4 and +3% and $v\text{VT}_2$ increased significantly by +5 and +3% in the HYP and NOR group respectively ($P<0.05$) under normoxic conditions (Table 3). However, only the HYP group enhanced significantly $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ as well as

$\dot{V}O_2$ at VT_2 by +5 and +7% respectively ($P<0.05$) with no modification of the RE (figure 2.2). Again, O_2 - p_{max} increased (+6%) only in the HYP group after IHT (Table 3). The NOR group disclosed no significant changes, neither for exercise oxygen uptake nor for RE.

All-out exercise test: the all-out exercise tests were performed in normoxia at the same absolute running velocity before and after training, i.e. pre-training $v \dot{V}O_{2\ max}$. After training, this speed amounted to 96 and 97% of the post-training $v \dot{V}O_{2\ max}$ for the HYP and NOR group respectively, therefore corresponding to the same relative running speed in both groups. As shown in figure 3, training significantly enhanced T_{lim} in the HYP but not in the NOR group (+35 vs. +10% respectively, $P<0.05$). Similar changes in the time sustained at pre-training $v \dot{V}O_{2\ max}$ were obtained when the transition period required for treadmill speed stabilization was subtracted from T_{lim} (+35 vs. +10% respectively, $P<0.05$). Concomitantly, the end-exercise $\dot{V}O_2$ achieved during the all-out test increased in the HYP group only (+6%, $P<0.05$) whereas the maximal $[La]$ values remained unchanged after training (Table 4).

The kinetics of $\dot{V}O_2$ response of a typical subject from the HYP and NOR group are shown in Fig. 4. Training did not modify parameters of the fast component of $\dot{V}O_2$ kinetics (Table 4) and O_2 def remained unchanged (HYP group: before $3,319 \pm 266$ vs. after $3,372 \pm 469$ mlO₂, ns; NOR group: before $2,793 \pm 239$ vs. after $2,563 \pm 169$ mlO₂, ns). A slow component of $\dot{V}O_2$ kinetics was consistently observed in only 5 subjects in the HYP and 6 subjects in the NOR group respectively. Its computed amplitude (A'_2) did not change after training, even when expressed at similar exercise time after vs. before training (A'_2 old). Neither $\dot{V}O_2$ kinetics alterations nor IET_N-derived factors significantly correlated with the observed modifications in T_{lim} , either in absolute or in delta (after vs. before) values. There was no difference between groups in TA $\dot{V}O_{2\ max}$ or in $T_{lim}@ \dot{V}O_{2\ max}$ before training (Table 4). However, $T_{lim}@ \dot{V}O_{2\ max}$ significantly improved by 2.5 times only in the HYP group after IHT, without modification of TA $\dot{V}O_{2\ max}$.

DISCUSSION

Major findings

This study demonstrates that when the hypoxic sessions of an IHT program features moderate duration (24-40min) and high-intensity (VT_2), significant improvements of $\dot{V}O_{2\max}$ are obtained in already trained athletes, not only at altitude but also at sea-level. Despite similar total training load (i.e. absolute and relative values), no such amelioration in the maximal rate of O_2 fluxes were observed in a control group exercising under permanent normoxia. The second finding of this work is that the present IHT program significantly lengthened T_{lim} , specifically in the HYP group, without significant changes in $\dot{V}O_2$ kinetics. These results suggest that, IHT did not change the control of O_2 fluxes adjustment to high-intensity exercise in competitive runners. Moreover, T_{lim} improvement in the HYP group was neither correlated with $\dot{V}O_{2\max}$ nor with ventilatory thresholds changes.

Maximal aerobic capacity and ventilatory thresholds

In hypoxia. This study demonstrates that the present IHT program elicit significant improvements of maximal and submaximal running velocities under hypoxia ($v\dot{V}O_{2\max}$, vVT_2 and vVT_1). Accordingly, all the athletes of the HYP group required an increase of the training velocity under hypoxia ($+0.4 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$) to maintain the initial HR values throughout the 6-wk IHT program. Since no RE changes resulted from the training period, the improvements observed in running speeds are mainly due to significant increases in the associated O_2 flux rates in the HYP group only ($\dot{V}O_{2\max}$ and $\dot{V}O_2$ at the ventilatory thresholds). These findings expand the observations reported by Terrados et al. in professional cyclists, demonstrating a specific increase of exercise capacity under hypoxia after altitude training only (43). Moreover, the present data also extend to already trained athletes the results obtained in untrained subjects, in which some consensus has been reach about the beneficial effect of hypoxic training on $\dot{V}O_{2\max}$ at altitude (21, 47).

At sea-level. The effects of IHT on the aerobic performance capacity at sea-level remains highly debated, especially in trained subjects (32). Despite both groups improved their running velocities at sea-level ($v\dot{V}O_{2\max}$ and vVT_2) in quite near proportions, the underlying physiological adaptations may well have been different. $v\dot{V}O_{2\max}$ and vVT_2 increased in the NOR group, through concomitant changes of $\dot{V}O_2$ and RE values (although not statistically significant). Conversely, one important result of this study is that the running speed improvements of the HYP group were associated with increases in $\dot{V}O_{2\max}$ and $\dot{V}O_2$ at VT_2 , with no RE alterations. These findings suggest that a normoxic training effect was present in the NOR group over the 6-wk period and that this effect was further potentialized by IHT in the HYP group, through an additional effect of IHT vs. normoxic training on aerobic power. This amelioration of aerobic power in the HYP group, is further exemplified by the increased $\dot{V}O_2$ at exhaustion during the all-out test. According to the specific intensity and duration of the present hypoxic training sessions, our results are in agreement with previous observations (38, 44, 46). Studies reporting no improvement in $\dot{V}O_{2\max}$ after IHT, either used lower hypoxic exercise intensity (at VT_1) (46) or shorter hypoxic exercise bouts (0.5-1 min) (44). On the other hand, similar increase in $\dot{V}O_{2\max}$ has been recently reported with an IHT model including longer periods of hypoxic exercise (2-12min) (38). A specific oxygen sensing transcription factor, the hypoxia inducible factor 1 alpha (HIF-1 α), is expected to play a pivotal role for the functional adaptations to hypoxic training (1, 11, 47). Of note, the duration and intensity of the hypoxic exercise bouts included in the present IHT model is in good agreement with the properties of HIF-1 α expression at the cellular level in humans. Not only the half-time of the HIF-1 α response to hypoxia fall in the range 12-13min (25), but also the magnitude of this response vary exponentially with the degree of hypoxia in the physiological range (26). These observations further reinforce the necessity to combine a minimum duration and intensity of hypoxic exercise in IHT programs, in order to reduce oxygen pressure in the active muscle (37) and achieve a substantial HIF-1 α response, resulting in peripheral muscle adaptations. Consequently, present and previous results, suggest that the combination of sufficient hypoxic exercise intensity and duration within

IHT programs is of paramount importance to obtain significant performance ameliorations in already trained athletes. An additional advantage of the hypoxic sessions in the present IHT design (i.e. 19% of the total training time in the present study) is the possibility to maintain the usual training load, which could also participate to the $\dot{V}O_{2\max}$ improvement we observed.

Some of our findings let us to consider that peripheral adaptations might have been involved. We observed that $O_{2-p_{\max}}$ improved in the HYP group only after IHT. Because O_{2-p} represents the product of stroke volume with arteriovenous oxygen difference ($\Delta a-vO_2$), and because invasive experiments have shown that $O_{2-p_{\max}}$ is largely determined by $\Delta a-vO_2$ (35, 42), $O_{2-p_{\max}}$ is likely to have increased via an $\Delta a-vO_2$ -mediated mechanism after IHT, suggesting an enhanced tissue O_2 extraction. Since our study was not designed to investigate O_2 extraction further studies are needed to verify this hypothesis. Nevertheless, several muscle changes have already been observed after hypoxic training programs in endurance trained subjects, such as larger deoxygenation in active muscles (28) and, although not reaching significance, a 36% increase in capillary density (43), supporting the concept of an improved O_2 extraction after IHT. Moreover, modelization studies have suggested that exercising in hypoxia may increase the relative contribution of peripheral factors (i.e. muscle perfusion, peripheral diffusion and mitochondrial capacity) to O_2 delivery and utilization (14, 15, 19, 48). We believe that the intensity and duration of the hypoxic exercise bouts included in the present IHT program are sufficient to induce the signaling cascade initiated by HIF-1 α , leading to molecular and tissue changes within the exercising skeletal muscles of our HYP subjects (34). The results disclosed in part II and III of our study, appearing in the present issue, also support this concept at least in part. Conversely, as far as O_2 transport is concerned, we observed that hemoglobin and hematocrit were similar in both groups, before vs. after training, in agreement with previous reports (22, 28, 34, 38, 43). Together with the unchanged HR_{\max} , these results suggest that O_2 delivery capacity is unlikely to represent a major cause of the $\dot{V}O_{2\max}$ improvement of the HYP group after IHT.

Tlim at $v\dot{V}O_{2\max}$ and oxygen kinetics

A major finding of the present study is that Tlim is specifically improved after IHT (+35%) while unchanged after normoxic training. Due to the exponential shape of the running velocity/time to fatigue relationship, our observed 3.7min lengthening of Tlim suggests that larger improvements of endurance time at lower velocities may have occurred. Thus, this observation can be considered as a hallmark of an enhanced performance capacity in middle and long distance running events. Consequently, Tlim lengthening in the present study extend previous findings demonstrating that 3 weeks of IHT dramatically delayed fatigue during a submaximal constant-load test in elite triathletes (45).

To date, the mechanisms leading to Tlim improvement remain poorly understood. It has been proposed that normoxic training may lengthens the endurance time at a given absolute running velocity, due to increases of $v\dot{V}O_{2\max}$ and/or submaximal running velocity (velocity at the lactate threshold), reducing the relative running speed the subjects have to sustain (i.e. expressed in % of the post-training $v\dot{V}O_{2\max}$)(12, 23). In the present study, we did not find any correlation between Tlim changes and alterations of maximal ($\dot{V}O_{2\max}$) and submaximal (ventilatory thresholds) $\dot{V}O_2$ nor with their associated velocities ($v\dot{V}O_{2\max}$, vVT_2 and vVT_1). Therefore, it is unlikely that changes in O_2 fluxes (i.e. $\dot{V}O_{2\max}$) and/or running velocities (i.e. $v\dot{V}O_{2\max}$) are the major causes of the Tlim improvement we observed. However, as $\dot{V}O_{2\max}$ and ventilatory thresholds improved concomitantly with Tlim in the HYP group, we cannot rule out the possible relevance of these changes and this point warrants further investigations.

Alternatively, $\dot{V}O_2$ kinetics has also been proposed as a determinant of Tlim that may be improved after normoxic training. To the best of our knowledge, the effect of hypoxic training on $\dot{V}O_2$ kinetics has never been reported, especially in already trained athletes. A speeding of $\dot{V}O_2$ adjustment has been proposed as a potential contributor of the delayed fatigue after high-intensity training at sea-level (13). These changes are expected to reduce the reliance toward anaerobic

metabolisms for energy provision, whose have been reported to amount to about 15% of energy expenditure during such Tlim testing (18). Nevertheless, we failed to observe such a mechanism, as illustrated by an unchanged fast component of $\dot{V}O_2$ kinetics, leading to unaltered O_2 def in both experimental groups. Additionally, sea-level training was often demonstrated to reduce the amplitude of the $\dot{V}O_2$ slow component, thereby contributing to improve exercise tolerance and delay fatigue (20). Again, we recorded no alterations in the $\dot{V}O_2$ slow component, even when expressed at consistent exercise time before vs. after IHT (A'_{2} old). Taken together, the unchanged fast and slow components of $\dot{V}O_2$ kinetics suggest that the dynamic control of O_2 fluxes is not a likely contributor to Tlim changes after IHT in already trained athletes. Therefore, neither the rates of O_2 fluxes, nor $\dot{V}O_2$ kinetics significantly account for the Tlim lengthening we observed, suggesting that IHT may improve Tlim by specific, hypoxic-related, adaptations.

A 2.5 times longer Tlim@ $\dot{V}O_{2\max}$ was observed in the HYP group after IHT, indicating an improved capacity to sustain high-levels of O_2 fluxes, close to, or above pre-training $\dot{V}O_{2\max}$, before exhaustion occurs. This observation appears despite unchanged [La] values recorded at exhaustion during the all-out test after vs. before IHT. Collectively, these findings suggest either a slower rate of blood lactate accumulation and/or a better tolerance of high levels of blood lactate after IHT. This might be associated with a concomitant amelioration of metabolite exchange and/or removal, contributing to enhance cellular homeostasis, thereby delaying the time at which fatigue occurs. This idea has already been suggested by a previous study, demonstrating that Tlim is related to the capacity of lactate exchange and removal. Due to its coupled transport with H^+ (27), an improved La exchange and removal could have contributed to slow down the progressive lowering of muscle pH while running at pre-training $\dot{V}O_{2\max}$. Although purely speculative in the present study, additional supports for the peripheral hypothesis underlying the improvement of endurance performance capacity after IHT are presented in the two following articles appearing in this issue. Part II of the present study suggest that IHT induces qualitative mitochondrial changes leading to an enhanced channelling of energy within the muscle cell, whereas part III shows that IHT training

induces transcriptional changes, potentially mediated by HIF-1 α , leading to enhanced metabolite exchanges and improved aerobic metabolism within the skeletal muscle cell.

Limitations of the Study

A limitation of the present study is related to the IHT design and management of training intensities. First, we speculated that VT₂ might be more effective in IHT designs than lower (i.e. VT₁) or higher (i.e. $v\dot{V}O_{2\max}$) training intensities, because of the achievement of a unique combination of intensity and duration of the hypoxic training stimulus. Moreover, this protocol was chosen as it allowed the usual training load of athletes to be unaltered (Table 2). Nevertheless, we did not test this hypothesis in the present study by including additional experimental groups training at either lower or higher intensity during the hypoxic sessions. Therefore, it remains to be determined if different hypoxic training intensities and durations elicit similar beneficial effects on endurance performance capacity in already trained athletes. Especially including a group trained at, or close to VT₁, would have been helpful and remains to be done.

Second, only the HYP group required its laboratory running speed to be increased at the end of week 3 in order to maintain the initial HR level, raising the question as whether the HYP group may have trained harder than the NOR group. We believed that this possibility is not supported by the unchanged VT₂ at the end vs. the beginning of training, when expressed in % of post-training $v\dot{V}O_{2\max}$, indicating that both groups trained at the same relative intensity during the laboratory sessions (Table 3). Nevertheless, different time course of training speed and $v\dot{V}O_{2\max}$ improvements may have led to a transient increase (i.e. week 4 and 5) in relative training intensity, thereby potentially acting as a confounding factor in our results. We believe that this possibility should have been counterbalanced by the transient lower relative intensity that could be expected in the HYP group just before training speed adjustments (i.e. week 2 and 3). Therefore, differences in relative training intensity, if present, may have probably played a minor role in the present study.

Nevertheless, future studies need to incorporate serial $\dot{V}O_{2\max}$ testing to completely eliminate this possibility.

On the same token, an additional Tlim test performed at the new $v\dot{V}O_{2\max}$ after training (same relative intensity before vs. after training) could have been helpful to clarify the role of $\dot{V}O_{2\max}$ and $v\dot{V}O_{2\max}$ in the improvement of Tlim we observed in the HYP group (+35%). However, since both groups improved $v\dot{V}O_{2\max}$ in quite near proportions, the post-training Tlim was performed at similar relative intensity in both groups (96 vs. 97% of the post-training $v\dot{V}O_{2\max}$ in the HYP and NOR group respectively). Therefore, although not performed at 100% of post-training $v\dot{V}O_{2\max}$, the changes in relative testing intensity are unlikely to account for the Tlim improvements we observed.

On a methodological standpoint, it can be argued from our relatively low RER_{\max} and $[La]_{\max}$ values (table 3) that $\dot{V}O_{2\max}$ might have been underestimated. Nevertheless 67 to 89% of the subjects reached a true $\dot{V}O_2$ plateau (i.e. always at least 6 out of 9 subjects in each test) and the maximal HR were close to (97%) the theoretical maximal HR. Moreover, $\dot{V}O_{2\max}$ as well as HR_{\max} were significantly higher on the treadmill than the ones previously obtained on the cycle-ergometer at the time of subjects' basal medical examination. Conversely, these parameters were similar between IET and Tlim testing. Therefore, we believe that true $\dot{V}O_{2\max}$ has been at least closely approached. On another hand, our RE values were estimated at moderate mainly aerobic ($12\text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$) and high (18 and $15\text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ in normoxia and hypoxia respectively) running speeds, yielding results consistent with previous reports (40, 41, 50). Nevertheless, since they were not measured at steady state during constant load exercise, these RE values must be interpreted with caution, until appropriate running economy testing is done by further investigations.

CONCLUSION

The present study investigates the effects of a carefully calibrated IHT program, designed to avoid reduction in training load, by including high-intensity (VT_2) and moderate duration (24-40min) hypoxic sessions, into the usual normoxic training of already trained athletes. Such an IHT model provides an original framework, in which the metabolic stimulus is enhanced through hypoxic sessions, without altering the mechanical component of the usual training load. Significant improvements of several indices of aerobic performance capacity were observed not only at altitude but also at sea-level, including $\dot{V}O_{2\max}$ and T_{lim} . Additionally, IHT did not significantly modify $\dot{V}O_2$ kinetics such that T_{lim} lengthening was correlated neither with changes in the rate of $\dot{V}O_2$ adjustment nor with $\dot{V}O_{2\max}$ and ventilatory thresholds. Collectively, these findings suggest that the enhanced endurance performance capacity obtained with IHT might be due to specific muscle adaptations to hypoxic training. This hypothesis is further explored in the two following parts of our study appearing in the present issue.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the athletes for their enthusiastic participation; the whole laboratory staff from the Département de Physiologie et des Explorations Fonctionnelles and the Equipe d'Accueil 3072 for their daily technical support; M. François Piquard, for his statistical advices; Valérie Bougault and Frédéric Daussin for their contribution during the training sessions. The help of M. Fabio Borrani was greatly appreciated for the application of the bootstrap method to the statistical treatment of the $\dot{V}O_2$ kinetics.

This project was supported by grants from the International Olympic Committee and the Ministère Français de la Jeunesse et des Sports. The scientific and sport coordination were respectively assumed by Pr. Jean-Paul Richalet and M. Laurent Schmitt to which we express our sincere gratitude.

REFERENCES

1. **Ameln H, Gustafsson T, Sundberg CJ, Okamoto K, Jansson E, Poellinger L and Makino Y.** Physiological activation of hypoxia inducible factor-1 in human skeletal muscle. *Faseb J* 19: 1009-1011, 2005.
2. **Barstow TJ and Mole PA.** Linear and nonlinear characteristics of oxygen uptake kinetics during heavy exercise. *J Appl Physiol* 71: 2099-2106, 1991.
3. **Beaver WL, Wasserman K and Whipp BJ.** A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 60: 2020-2027, 1986.
4. **Billat LV and Koralsztejn JP.** Significance of the velocity at VO₂max and time to exhaustion at this velocity. *Sports Med* 22: 90-108, 1996.
5. **Billat V, Lepretre PM, Heugas AM, Laurence MH, Salim D and Koralsztejn JP.** Training and Bioenergetic Characteristics in Elite Male and Female Kenyan Runners. *Med Sci Sports Exerc* 35: 297-304, 2003.
6. **Billat VL, Lepretre PM, Heubert RP, Koralsztejn JP and Gazeau FP.** Influence of acute moderate hypoxia on time to exhaustion at vVO₂max in unacclimatized runners. *Int J Sports Med* 24: 9-14, 2003.
7. **Borrani F, Candau R, Millet GY, Perrey S, Fuchslocher J and Rouillon JD.** Is the VO₂ slow component dependent on progressive recruitment of fast-twitch fibers in trained runners? *J Appl Physiol* 90: 2212-2220, 2001.
8. **Borrani F, Candau R, Perrey S, Millet GY, Millet GP and Rouillon JD.** Does the mechanical work in running change during the VO₂ slow component? *Med Sci Sports Exerc* 35: 50-57, 2003.
9. **Cavanagh PR and Williams KR.** The effect of stride length variation on oxygen uptake during distance running. *Med Sci Sports Exerc* 14: 30-35, 1982.
10. **Daniels J and Daniels N.** Running economy of elite male and elite female runners. *Med Sci Sports Exerc* 24: 483-489, 1992.

11. **Däpp C, Gassmann M, Hoppeler H and Flück M.** Chapter 16: Hypoxia-induced gene activity in disused oxidative muscle. In Press. In: *Hypoxia and Exercise*, edited by Roach Rea. New York: Springer Publisher, 2005.
12. **Demarle AP, Heugas AM, Slawinski JJ, Tricot VM, Koralsztein JP and Billat VL.**
Whichever the initial training status, any increase in velocity at lactate threshold appears as a major factor in improved time to exhaustion at the same severe velocity after training. *Arch Physiol Biochem* 111: 167-176, 2003.
13. **Demarle AP, Slawinski JJ, Laffite LP, Bocquet VG, Koralsztein JP and Billat VL.**
Decrease of O₂ deficit is a potential factor in increased time to exhaustion after specific endurance training. *J Appl Physiol* 90: 947-953, 2001.
14. **di Prampero PE.** Metabolic and circulatory limitations to VO₂ max at the whole animal level. *J Exp Biol* 115: 319-331, 1985.
15. **di Prampero PE.** A brief comment on the factors limiting maximal oxygen consumption in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 80: 516-517, 1999.
16. **Durnin JV and Womersley J.** Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 32: 77-97, 1974.
17. **Effron B and Tibshirani RJ.** *An introduction to the Bootstrap*. New-York: Chapman and Hall, 1993.
18. **Faina M, Billat V, Squadrone R, De Angelis M, Koralsztein JP and Dal Monte A.**
Anaerobic contribution to the time to exhaustion at the minimal exercise intensity at which maximal oxygen uptake occurs in elite cyclists, kayakists and swimmers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 76: 13-20, 1997.
19. **Ferretti G and di Prampero PE.** Factors limiting maximal O₂ consumption: effects of acute changes in ventilation. *Respir Physiol* 99: 259-271, 1995.

20. **Gaesser GA and Poole DC.** The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. *Exerc Sport Sci Rev* 24: 35-71, 1996.
21. **Geiser J, Vogt M, Billeter R, Zuleger C, Belforti F and Hoppeler H.** Training high--living low: changes of aerobic performance and muscle structure with training at simulated altitude. *Int J Sports Med* 22: 579-585, 2001.
22. **Hendriksen IJ and Meeuwse T.** The effect of intermittent training in hypobaric hypoxia on sea-level exercise: a cross-over study in humans. *Eur J Appl Physiol* 88: 396-403, 2003.
23. **Heubert R, Bocquet V, Koralsztein JP and Billat V.** Effect of 4 weeks of training on the limit time at VO₂ max. *Can J Appl Physiol* 28: 717-736, 2003.
24. **Hornbein TF and Schoene RB.** *High Altitude: An Exploration of Human Adaptation.* New-York: Marcel Dekker, 2001.
25. **Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH and Gassmann M.** Induction of HIF-1 α in response to hypoxia is instantaneous. *Faseb J* 15: 1312-1314, 2001.
26. **Jiang BH, Semenza GL, Bauer C and Marti HH.** Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O₂ tension. *Am J Physiol* 271: C1172-1180, 1996.
27. **Juel C.** Muscle pH regulation: role of training. *Acta Physiol Scand* 162: 359-366, 1998.
28. **Kime R, Karlsen T, Nioka S, Lech G, Madsen O, Saeterdal R, Im J, Chance B and Stray-Gundersen J.** Discrepancy between cardiorespiratory system and skeletal muscle in elite cyclists after hypoxic training. *Dyn Med* 2: 4, 2003.
29. **Kuipers H, Verstappen FT, Keizer HA, Geurten P and Van Kranenburg G.** Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiological correlates. *Int J Sports Med* 6: 197-201, 1985.
30. **Laffite LP, Mille-Hamard L, Koralsztein JP and Billat VL.** The effects of interval training on oxygen pulse and performance in supra-threshold runs. *Arch Physiol Biochem* 111: 202-210, 2003.

31. **Lamarra N, Whipp BJ, Ward SA and Wasserman K.** Effect of interbreath fluctuations on characterizing exercise gas exchange kinetics. *J Appl Physiol* 62: 2003-2012, 1987.
32. **Levine BD.** Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol* 3: 177-193, 2002.
33. **Macfarlane DJ.** Automated metabolic gas analysis systems: a review. *Sports Med* 31: 841-861, 2001.
34. **Meeuwsen T, Hendriksen IJ and Holewijn M.** Training-induced increases in sea-level performance are enhanced by acute intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol* 84: 283-290, 2001.
35. **Mortensen SP, Dawson EA, Yoshiga CC, Dalsgaard MK, Damsgaard R, Secher NH and Gonzalez-Alonso J.** Limitations to systemic and locomotor limb muscle oxygen delivery and uptake during maximal exercise in humans. *J Physiol*, 2005.
36. **Paterson DH and Whipp BJ.** Asymmetries of oxygen uptake transients at the on- and offset of heavy exercise in humans. *J Physiol* 443: 575-586, 1991.
37. **Richardson RS, Noyszewski EA, Kendrick KF, Leigh JS and Wagner PD.** Myoglobin O₂ desaturation during exercise. Evidence of limited O₂ transport. *J Clin Invest* 96: 1916-1926, 1995.
38. **Roels B, Millet GP, Marcoux CJ, Coste O, Bentley DJ and Candau RB.** Effects of Hypoxic Interval Training on Cycling Performance. *Med Sci Sports Exerc* 37: 138-146, 2005.
39. **Rossiter HB, Howe FA, Ward SA, Kowalchuk JM, Griffiths JR and Whipp BJ.** Intersample fluctuations in phosphocreatine concentration determined by ³¹P-magnetic resonance spectroscopy and parameter estimation of metabolic responses to exercise in humans. *J Physiol* 528 Pt 2: 359-369, 2000.
40. **Saunders PU, Pyne DB, Telford RD and Hawley JA.** Reliability and variability of running economy in elite distance runners. *Med Sci Sports Exerc* 36: 1972-1976, 2004.
41. **Saunders PU, Telford RD, Pyne DB, Cunningham RB, Gore CJ, Hahn AG and Hawley JA.** Improved running economy in elite runners after 20 days of simulated moderate-altitude exposure. *J Appl Physiol* 96: 931-937, 2004.

42. **Stringer WW, Hansen JE and Wasserman K.** Cardiac output estimated noninvasively from oxygen uptake during exercise. *J Appl Physiol* 82: 908-912, 1997.
43. **Terrados N, Melichna J, Sylven C, Jansson E and Kaijser L.** Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57: 203-209, 1988.
44. **Truijens MJ, Toussaint HM, Dow J and Levine BD.** Effect of high-intensity hypoxic training on sea-level swimming performances. *J Appl Physiol* 94: 733-743, 2003.
45. **Vallier JM, Chateau P and Guezennec CY.** Effects of physical training in a hypobaric chamber on the physical performance of competitive triathletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 73: 471-478, 1996.
46. **Ventura N, Hoppeler H, Seiler R, Binggeli A, Mullis P and Vogt M.** The response of trained athletes to six weeks of endurance training in hypoxia or normoxia. *Int J Sports Med* 24: 166-172, 2003.
47. **Vogt M, Puntchart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R and Hoppeler H.** Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 91: 173-182, 2001.
48. **Wagner PD.** A theoretical analysis of factors determining VO₂ MAX at sea level and altitude. *Respir Physiol* 106: 329-343, 1996.
49. **Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Whipp BJ and Casaburi R.** *Principles of exercise testing and interpretation*. Media: Williams & Wilkins, 1994.
50. **Weston AR, Mbambo Z and Myburgh KH.** Running economy of African and Caucasian distance runners. *Med Sci Sports Exerc* 32: 1130-1134, 2000.
51. **Whipp BJ and Ozyener F.** The kinetics of exertional oxygen uptake: assumptions and inferences. *Med Sport* 51: 139-149, 1998.

CAPTIONS TO FIGURES



Fig 1. Study design with the four phases of the experimental protocol. : incremental running tests. : all-out running tests in normoxia. Normoxia: $FI_{O_2} = 20.9\%$. Hypoxia: $FI_{O_2} = 14.5\%$. Phases 1, 2, 3 and 4 are the respective experimental phases (See text for details).

Fig 2. Percent change in maximal oxygen uptake in hypoxia (**Fig. 2.1**) and in normoxia (**Fig. 2.2**) for each individual subject of the HYP (panel A) and NOR (panel B) groups, before and after the training program. Horizontal solid lines with vertical bars represent group changes. Horizontal dashed lines are the zero level. Absolute mean changes for all subjects from the HYP and NOR groups are shown in panel C. HYP and NOR represent the groups of subjects that performed the laboratory controlled training sessions under hypoxic or normoxic conditions respectively; All values are presented as means \pm SEM. Significant differences before vs. after training, * $P < 0.05$.

Fig 3. Percent change in T_{lim} for each individual subject before and after the training program in the HYP (panel A) and NOR (panel B) groups. Horizontal solid lines with vertical bars represent group changes. Horizontal dashed lines are the zero level. Absolute mean changes for all subjects from the HYP and NOR groups are shown in panel C. Values are presented as means \pm SEM. HYP and NOR represent the group of subjects that performed the laboratory controlled training sessions under hypoxic or normoxic conditions respectively; T_{lim} , running time to exhaustion at the pre-training minimal velocity associated with maximal oxygen uptake; Significant differences before vs. after training, * $P < 0.05$.

Fig 4. Kinetics of the oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) response of one representative individual from the HYP group (panel A) and NOR group (panel B) during the all-out run at the pre-training minimal velocity associated with $\dot{V}O_{2\max}$, before (■) and after (□) the 6wk of IHT program. Note that T_{lim} changes appeared despite no modification in the kinetics of the $\dot{V}O_2$ response in both subjects.

Fig. 1

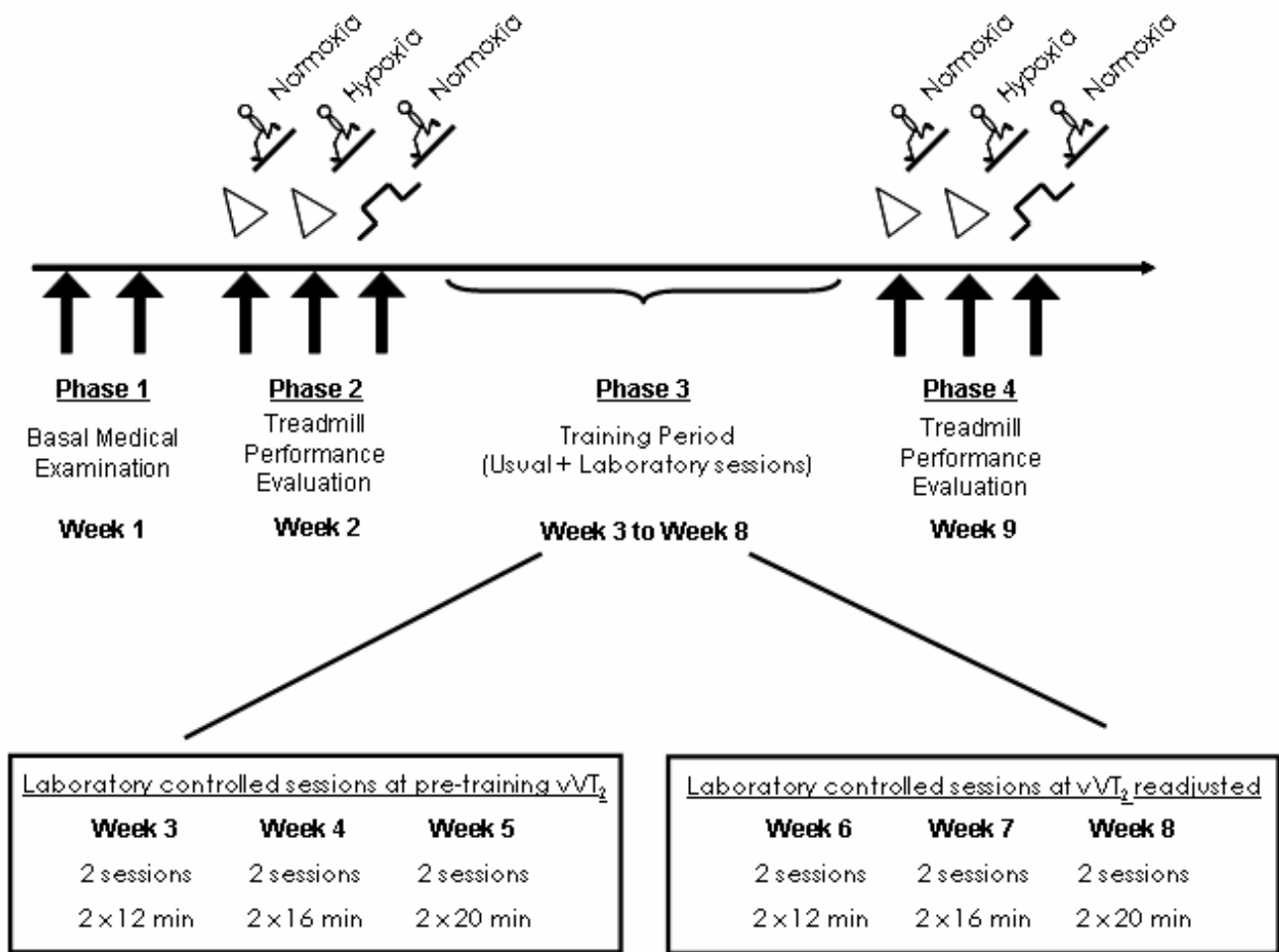


Fig 2.1. $\dot{V}O_2\text{max}$ in hypoxia

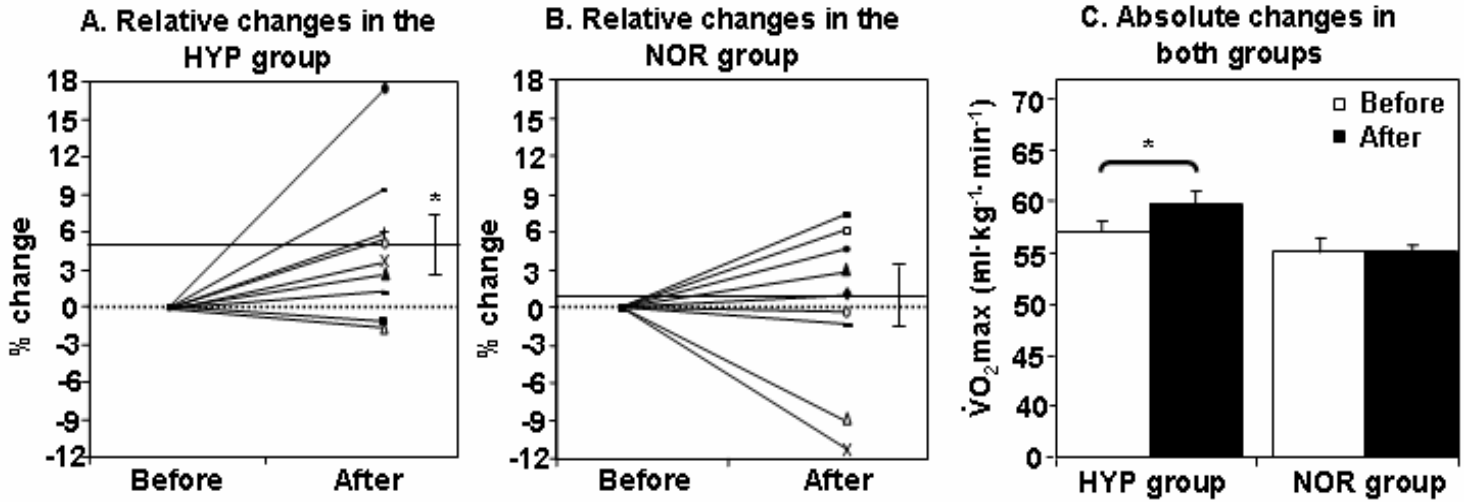


Fig 2.2. $\dot{V}O_2\text{max}$ in normoxia

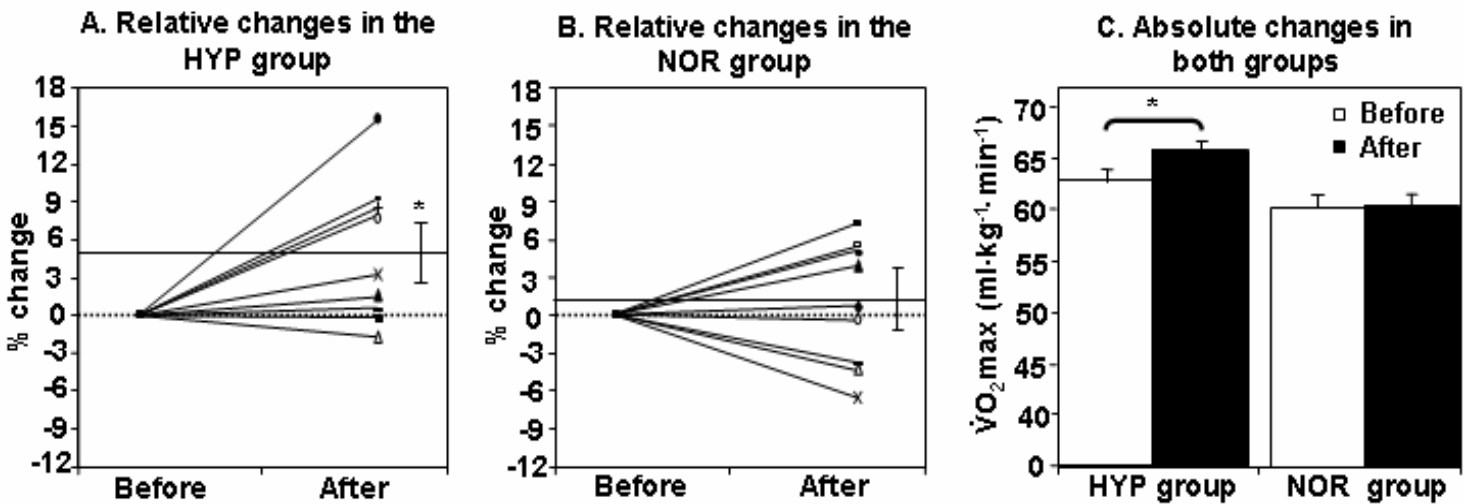


Fig 3. Time to exhaustion at pre-training $\dot{V}O_2\text{max}$

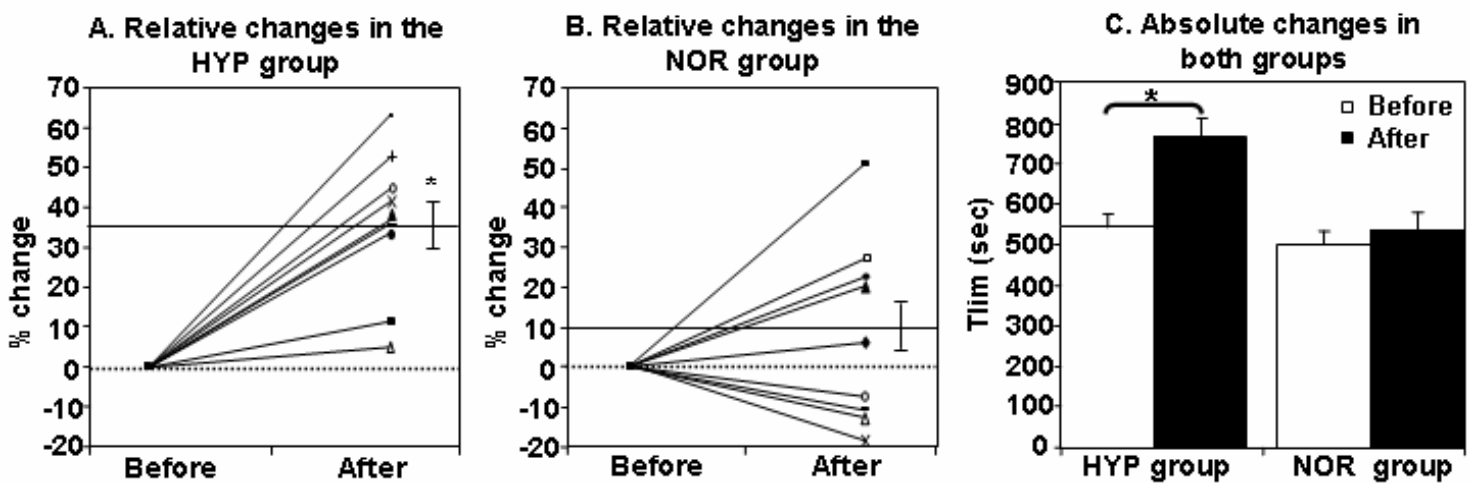


Fig. 4A

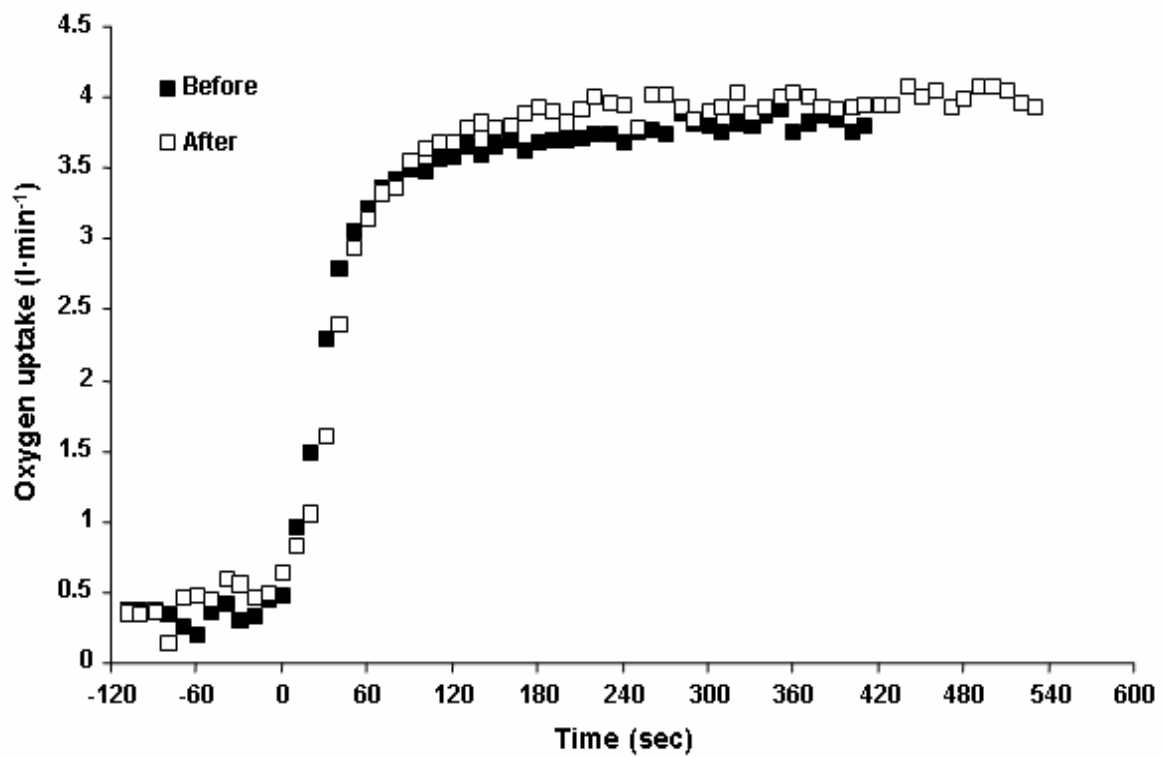


Fig. 4B

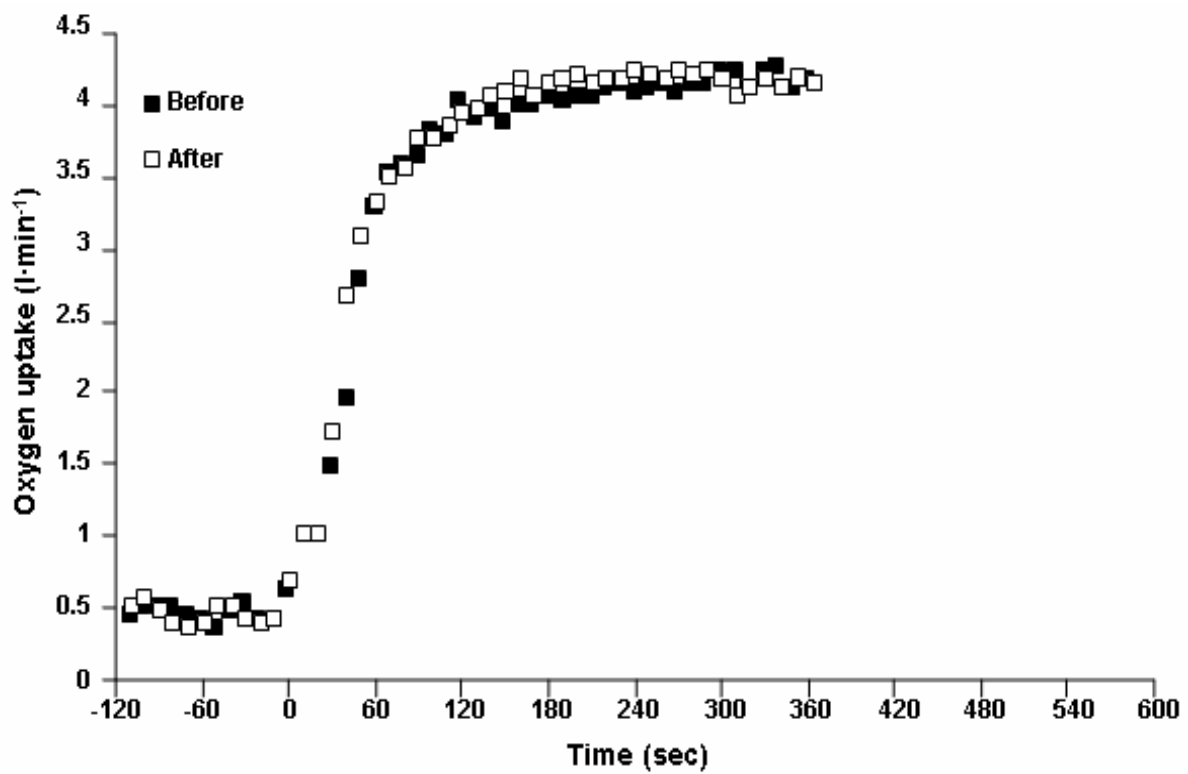


Table 1. *Anthropometric data and performance capacity of the subjects*

	Hypoxic group	Normoxic group	P values
Number of subjects	9	9	ns
Body weight, kg	70.6 ± 2.2	71.3 ± 2.2	ns
Height, cm	180 ± 1	180 ± 2	ns
Age, yr	30.3 ± 6.3	30.3 ± 6.1	ns
% Body Fat	11.8 ± 0.8	12.1 ± 1.2	ns
[Hb], g·L ⁻¹	15.3 ± 0.2	15.3 ± 0.3	ns
Hct, %	45.1 ± 0.8	46.0 ± 1.2	ns
$\dot{V}O_{2\text{ max}}$, ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	64.2 ± 1.2	61.5 ± 1.1	ns
$v\dot{V}O_{2\text{ max}}$, km·h ⁻¹	19.6 ± 0.2	19.0 ± 0.4	ns
VT ₂ , % $\dot{V}O_{2\text{ max}}$	89.7 ± 1.5	88.7 ± 1.2	ns

Hypoxic (HYP) and Normoxic (NOR) groups: groups that included only two training sessions at the velocity corresponding to the second ventilatory threshold in their usual weekly training schedule, and performed under hypoxic or normoxic condition respectively. % Body Fat: percentage of body fat determined according to Durnin and Womersley (16). [Hb]: hemoglobin concentration. Hct: hematocrit. $\dot{V}O_{2\text{ max}}$: maximal oxygen uptake determined in the normoxic incremental test. $v\dot{V}O_{2\text{ max}}$: the lowest running speed associated with $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ in the normoxic incremental exercise test. VT₂: second ventilatory threshold determined during the normoxic incremental test. Values are presented as means ± SEM. ns: no significant difference between HYP and NOR groups.

Table 2. Training load characteristics

	Hypoxic group	Normoxic group	P value
Laboratory controlled sessions			
First 3 weeks			
Running speed at VT ₂ , km·h ⁻¹	15.0 ± 0.2	16.7 ± 0.3	< 0.01
Running speed absolute, %	77 ± 1	88 ± 1	< 0.01
Running speed relative, %	89 ± 2	88 ± 1	ns
Last 3 weeks			
Running speed at VT ₂ , km·h ⁻¹	15.4 ± 0.2	16.7 ± 0.3	< 0.01
Running speed absolute, %	76 ± 1	86 ± 1	< 0.01
Running speed relative, %	87 ± 1	86 ± 1	ns
Total training,			
Low, % of total training time	72.7 ± 1.8	68.7 ± 4.2	ns
Moderate, % of total training time	4.9 ± 1.4	9.7 ± 1.9	ns
Heavy, % of total training time	21.0 ± 1.0	21.4 ± 2.8	ns
Severe, % of total training time	1.3 ± 0.5	0.3 ± 0.1	ns

Hypoxic and Normoxic groups: groups that performed the controlled training sessions in hypoxic and normoxic conditions respectively. VT₂, second ventilatory threshold; The running velocity of the controlled training sessions was readjusted after 3 weeks of training according to heart rate changes (See Methods); Running speed absolute, running velocity expressed as a percentage of the pre (first 3 weeks) or post-training (last 3 weeks) velocity associated with maximal oxygen uptake under normoxic condition; Running speed relative, running velocity expressed as a percentage of the pre (first 3 weeks) or post-training (last 3 weeks) velocity associated with maximal oxygen uptake in the group specific environment; Intensity zones are as follow: Low < velocity associated with the first ventilatory threshold < Moderate < velocity associated with the second ventilatory threshold < Heavy < velocity associated with maximal oxygen uptake < Severe. Values are presented as means ± SEM. P value: level of significance for the difference between groups, ns: not significant.

Table 3. *Running velocities, running economy and selected maximal physiological parameters measured in normoxic and hypoxic incremental tests before and after the 6-wk training period*

	Hypoxic group		Normoxic group	
	Pre	Post	Pre	Post
<u>Running velocities</u>				
V_{peak} , km·h ⁻¹				
Normoxia	20.5 ± 0.2	20.9 ± 0.2 *	19.8 ± 0.4	20.2 ± 0.4 *
Hypoxia	17.7 ± 0.3	18.4 ± 0.2 §	17.2 ± 0.4	17.6 ± 0.4
$v\dot{V}O_{2\text{max}}$, km·h ⁻¹				
Normoxia	19.6 ± 0.2	20.3 ± 0.2 §	19.0 ± 0.4	19.6 ± 0.3 *
Hypoxia	17.0 ± 0.4	17.8 ± 0.3 §	16.3 ± 0.3	16.7 ± 0.4
vVT_2 , km·h ⁻¹				
Normoxia	18.0 ± 0.2	18.9 ± 0.1 §	17.2 ± 0.4	17.8 ± 0.4 *
Hypoxia	15.4 ± 0.2	16.6 ± 0.2 §	15.1 ± 0.3	15.6 ± 0.4
vVT_1 , km·h ⁻¹				
Normoxia	15.3 ± 0.2	15.6 ± 0.2	14.4 ± 0.4	15.0 ± 0.4 *
Hypoxia	13.1 ± 0.2	14.0 ± 0.2 §	12.9 ± 0.3	13.2 ± 0.4
<u>Running economy, mlO₂·min⁻¹·kg⁻¹</u>				
Normoxia at 12 km·h ⁻¹	38.2 ± 1.9	36.9 ± 0.8	36.9 ± 1.2	36.1 ± 1.0
Hypoxia at 12 km·h ⁻¹	39.3 ± 1.1	38.6 ± 1.6	39.9 ± 1.3	38.7 ± 1.3
Normoxia at 18 km·h ⁻¹	57.9 ± 1.6	57.8 ± 1.4	57.2 ± 1.8	55.6 ± 1.1
Hypoxia at 15 km·h ⁻¹	50.2 ± 1.3	50.6 ± 2.1	51.4 ± 1.8	49.8 ± 1.2
<u>Maximal physiological parameters</u>				
$O_2\text{-}p_{\text{max}}$, ml/bpm				
Normoxia	24.7 ± 0.8	26.2 ± 1.0 *	23.8 ± 0.6	23.9 ± 0.9
Hypoxia	23.5 ± 1.0	24.8 ± 1.2 *	22.6 ± 0.8	22.5 ± 0.5
HR_{max} , bpm				
Normoxia	183 ± 2	182 ± 4	184 ± 4	185 ± 3
Hypoxia	170 ± 3	172 ± 3	174 ± 4	174 ± 3
$\dot{V}_{E\text{max}}$, l/min				
Normoxia	157 ± 7	162 ± 8	147 ± 7	144 ± 5
Hypoxia	134 ± 7	137 ± 8	142 ± 5	132 ± 7
$[La]_{\text{max}}$, mmol/l				
Normoxia	6.9 ± 0.8	6.5 ± 0.5	7.3 ± 0.5	7.9 ± 0.7
Hypoxia	6.7 ± 0.9	6.6 ± 0.7	8.6 ± 0.7	7.7 ± 0.7
RER_{max}				
Normoxia	1.05 ± 0.02	1.05 ± 0.02	1.04 ± 0.03	1.04 ± 0.03
Hypoxia	1.04 ± 0.02	1.07 ± 0.04	1.06 ± 0.01	1.06 ± 0.03
$\dot{V}O_2$ levelling-off, (yes/no)				
Normoxia	7/2	6/3	6/3	8/1
Hypoxia	6/3	6/3	7/2	6/3

Pre and Post: before and after the 6-wk training period. V_{peak} , $v\dot{V}O_{2\text{max}}$, vVT_2 , vVT_1 : Running velocities achieved during the IET at exhaustion, at maximal oxygen uptake and at the second and

first ventilatory threshold respectively. $O_{2-p_{max}}$, HR_{max} , $\dot{V}_{E_{max}}$, $[La]_{max}$ and RER_{max} : maximal values for oxygen pulse, heart rate, ventilation, blood lactate and respiratory exchange ratio respectively. $\dot{V}O_2$ levelling-off, number of subjects having/having not reached a $\dot{V}O_2$ plateau at the end of the incremental test. Significant differences between Pre and Post values, * $P < 0.05$, § $P < 0.01$. Values are means \pm SEM.

Table 4. Training effects on the time until exhaustion and the parameters of the $\dot{V}O_2$ kinetics

	Hypoxic group				Normoxic group			
	Pre		Post		Pre		Post	
	Values	CV mean	Values	CV mean	Values	CV mean	Values	CV mean
td ₁ , s	18.0 ± 1.7	13.9%	22.6 ± 2.6	20.5%	19.3 ± 2.2	23.0%	16.2 ± 1.4	19.8%
τ ₁ , s	31.0 ± 4.4	19.8%	32.3 ± 2.5	22.4%	29.7 ± 2.1	20.4%	26.9 ± 2.1	24.3%
A ₁ , ml/min	3,605 ± 159	2.0%	3,825 ± 202	3.3%	3,680 ± 138	2.3%	3,565 ± 107	3.0%
td ₂ , s	136.1 ± 15.3 (n = 5)	16.9%	207.8 ± 29.1 (n = 5)	28.7%	179.1 ± 13.7 (n = 6)	20.6%	140.1 ± 21.1 (n = 6)	21.2%
τ ₂ , s	157.3 ± 38.1 (n = 5)	25.4%	148.8 ± 49.3 (n = 5)	44.5%	163.4 ± 39.7 (n = 6)	17.4%	108.6 ± 38.2 (n = 6)	29.3%
A' ₂ , ml/min	475 ± 101 (n = 5)	39.4 %	532 ± 92 (n = 5)	30.2%	269 ± 65 (n = 6)	41.1%	371 ± 89 (n = 6)	35.7%
A' ₂ old, ml/min			475 ± 92 n = 5				333 ± 74 n = 5	
TA $\dot{V}O_{2\max}$, s	344 ± 66		207 ± 34		187 ± 32		264 ± 61	
Tlim@ $\dot{V}O_{2\max}$, s	228 ± 47		577 ± 75 *		319 ± 46		281 ± 73	
EE $\dot{V}O_2$, ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹	62.7 ± 1.3		66.8 ± 1.5 *		62.0 ± 0.4		61.6 ± 1.1	
EE HR, bpm	176 ± 3		179 ± 3		177 ± 3		178 ± 4	
EE [La], mmol/l	7.7 ± 0.6		7.2 ± 0.7		9.5 ± 0.8		9 ± 1.1	

Pre and Post, values measured before and after training. CV mean: coefficient of variation estimated by the bootstrap method. A₁, A'₂, amplitude terms for $\dot{V}O_2$; td₁ and td₂, time delays to onset of each component; τ₁ and τ₂, time constants of each component; A'₂ old, amplitude of the post-training slow component obtained when the subject reached their pre-training Tlim; only 5 and 6 subjects demonstrated a slow component of the $\dot{V}O_2$ kinetics in the HYP and NOR group respectively; EE $\dot{V}O_2$, end-exercise oxygen uptake; TA $\dot{V}O_{2\max}$, time to reach pre-training $\dot{V}O_{2\max}$; Tlim@ $\dot{V}O_{2\max}$, time sustained at pre-training $\dot{V}O_{2\max}$; EE HR, EE [La], end-exercise values for heart rate and blood lactate respectively. Significant differences between Pre vs. Post values, * P<0.05. Values are reported as means ± SEM.

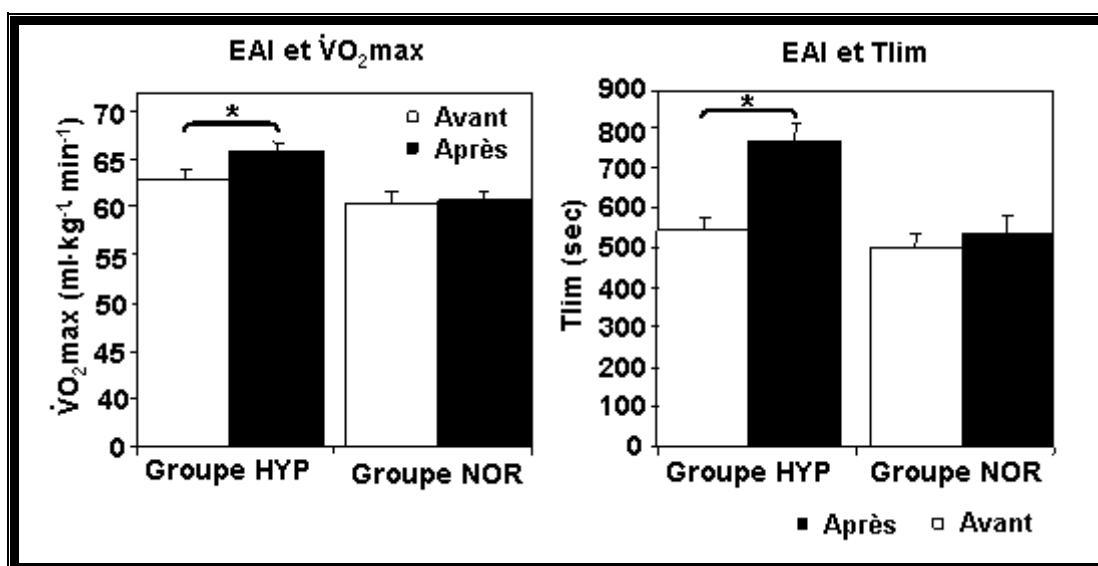


Figure 11: Principaux effets de l'EAI sur la capacité de performance aérobie des athlètes. Seul le groupe d'athlètes entraînés en altitude intermittente a significativement amélioré $\dot{V}O_2\text{max}$ et Tlim. n=9 pour le groupe HYP et n=9 pour le groupe NOR. *: P<0.05.

Un premier résultat de cette étude est que l'inclusion de 2 séances hebdomadaires en altitude (3000 m), réalisées à haute intensité (SV_2) pour une durée limitée (24-40 min/séance), dans 6 semaines de l'entraînement habituel d'athlètes entraînés, permet d'améliorer spécifiquement $\dot{V}O_2\text{max}$ (5%), non seulement en altitude mais également au niveau de la mer. Malgré une charge d'entraînement identique, cette observation n'apparaît pas dans le groupe contrôle. Cette observation n'est pas accompagnée de modifications de la concentration sanguine en hémoglobine, ni de l'hématocrite, restés stables dans les 2 groupes.

Un deuxième résultat important de cette étude est que les 6 semaines d'EAI réalisées par le groupe HYP, améliorent spécifiquement Tlim à $v\dot{V}O_2\text{max}$ (35%), sans modifier la cinétique de $\dot{V}O_2$. L'allongement de Tlim apparaît donc sans réduction du déficit d' O_2 et n'est pas non plus corrélé aux améliorations de vSV_2 , $v\dot{V}O_2\text{max}$ ou $\dot{V}O_2\text{max}$. Nous émettons l'hypothèse que cette observation est rendue possible par une réduction des perturbations de l'homéostasie cellulaire à l'exercice, via une amélioration des mécanismes potentiellement impliqués dans le contrôle des métabolismes aérobie et/ou la régulation du pH musculaire. Ces pistes sont approfondies dans les articles qui suivent.

Au final, les stimuli mécaniques totaux générés par l'entraînement habituel des athlètes n'ont pas été modifiés par la réalisation de 2 séances d'entraînement hebdomadaires en altitude et sont conservés identiques dans les 2 groupes expérimentaux (NOR vs. HYP). Les améliorations

de la capacité de performance observées pour le groupe HYP ($\dot{V}O_{2\max}$ et T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$) semblent donc spécifiques du stimulus métabolique additionnel généré par l'entraînement en altitude, confirmant la possibilité d'utiliser l'EAI comme un modèle de stimulation métabolique.

I.2. Effets sur la fonction mitochondriale

I.2.1. Présentation

L'étude précédente s'est attachée à mettre en évidence les effets d'un programme spécifique d'EAI, incluant une utilisation modérée de l'altitude (jamais plus de 80 min/sem) lors de séances d'entraînement intenses (vSV_2), sur la capacité de performance aérobie d'athlètes entraînés. Des améliorations significatives du fonctionnement des métabolismes aérobies ont été décrites au niveau systémique ($\dot{V}O_{2\max}$, $\dot{V}O_2$ aux seuils métaboliques, cinétique de $\dot{V}O_2$ et T_{lim} à $\dot{V}O_{2\max}$) et les résultats obtenus suggèrent une origine plutôt périphérique à ces observations. Le tissu musculaire étant connu pour sa grande plasticité aux stimuli métaboliques et mécaniques (Fluck & Hoppeler, 2003), la possibilité existe que les 2 séances hebdomadaires d'entraînement en altitude réalisées par le groupe HYP aient été suffisantes pour induire des adaptations permettant un meilleur transport et/ou une meilleure utilisation de l' O_2 au niveau musculaire. En améliorant la contribution aérobie à la production d'énergie métabolique, ces adaptations permettent également de minimiser ou retarder l'engagement massif des métabolismes anaérobies à la fourniture énergétique, laquelle est à l'origine de perturbations importantes de l'homéostasie cellulaire. Parmi les adaptations musculaires suspectées d'être impliquées dans cette amélioration de l'extraction périphérique d' O_2 , on trouve une augmentation de la capillarisation musculaire, un meilleur gradient de diffusion de l' O_2 entre les globules rouges et les mitochondries et une élévation des capacités oxydatives mitochondriales.

Les mitochondries jouent un rôle central dans la fourniture aérobie d'énergie métabolique et elles semblent douées d'importantes facultés d'adaptation aux stimuli métaboliques générés par l'exercice (Hoppeler & Fluck, 2003). Après entraînement en altitude chez le sujet sédentaire, une augmentation du contenu musculaire en mitochondries ainsi qu'une augmentation de l'activité des enzymes oxydatives, telles que la citrate synthase a déjà été démontrée (Terrados *et al.*, 1990; Desplanches *et al.*, 1993; Melissa *et al.*, 1997; Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). Pourtant, le devenir des aspects quantitatifs et qualitatifs de la fonction mitochondriale après entraînement chez l'athlète, et particulièrement après EAI, reste encore inconnu. Une étude récente menée par notre équipe a montré que $\dot{V}O_{2\max}$ est significativement corrélée à la \dot{V}_{\max}

mitochondriale et que le contrôle de la respiration mitochondriale du muscle squelettique par le système des créatine kinases augmente à mesure que $\dot{V}O_{2\max}$ s'élève (Zoll *et al.*, 2002). Cette dernière observation est confirmée chez l'animal (Zoll *et al.*, 2003) et suggère que l'organisation architecturale intracellulaire joue un rôle important dans l'efficacité des métabolismes aérobie. Cette réorganisation cellulaire permettrait un meilleur transfert de l'énergie métabolique entre ses sites d'utilisation (ex: myosine ATPases et Ca^{2+} ATPases) et ses sites de production (chaîne respiratoire). Au niveau fonctionnel, de telles adaptations limiteraient les perturbations de l'homéostasie nécessaires à l'activation des métabolismes aérobie à l'exercice.

En raison de leur contribution potentielle à l'amélioration de la capacité de performance aérobie après EAI, cette étude a pour objectif de vérifier l'effet d'un EAI sur les aspects quantitatifs et qualitatifs de la fonction mitochondriale, et notamment :

- 1) de déterminer si le gain de $\dot{V}O_{2\max}$ après EAI est lié à une amélioration des capacités oxydatives maximales, telles que mesurées par la \dot{V}_{\max} mitochondriale.
- 2) d'établir si des adaptations quantitatives et/ou qualitatives de la respiration mitochondriale (\dot{V}_{\max} , K_m avec et sans créatine) sont associées à l'allongement du T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ après EAI.

I.2.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article en révision

Exercise training in normobaric hypoxia in well-trained athletes: improvements of qualitative mitochondrial properties in skeletal muscle. En révision au Journal of Applied Physiology JAP-00359-2005

Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners:

Improvement of mitochondrial properties in skeletal muscle.

Elodie PONSOT¹, Stéphane P. DUFOUR¹, Joffrey ZOLL², Stéphane DOUTRELEAU¹,
Benoit N'GUESSAN¹, Bernard GENY¹, Hans HOPPELER², Eliane LAMPERT¹, Bertrand
METTAUER^{1,3}, Renée VENTURA-CLAPIER⁴, Ruddy RICHARD¹.

*¹Service de Physiologie Clinique et des Explorations Fonctionnelles Respiratoires et de l'Exercice,
Département de Physiologie EA 3072, 67 091 Strasbourg, France*

²Institute of Anatomy, University of Bern, 3012 Bern, Switzerland

³Service de Cardiologie, Hôpitaux Civils de Colmar, 68024 Colmar, France

⁴U-446 INSERM, Faculté de Pharmacie, 92 296 Châtenay-Malabry, France

RUNNING HEAD: Hypoxia training and mitochondrial function

Address for reprint request and correspondence:

Dr. Ruddy RICHARD,

Hôpital Civil – Service des Explorations Fonctionnelles Respiratoires et de l'Exercice, 1 place
de l'Hôpital, BP 426, 67091 Strasbourg Cedex, France

Tel: 3 33 88 11 61 22

Fax: 3 33 88 11 64 67

Email: Ruddy.Richard@physio-ulp.u-strasbg.fr

KEY WORDS: intermittent hypoxia training; muscle; mitochondria; time to exhaustion,
athletes

ABSTRACT

This study investigates whether adaptations of mitochondrial function accompany the improvement of endurance performance capacity observed in well-trained athletes after a intermittent hypoxic training program (IHT). For 6 weeks, 15 endurance athletes performed two weekly training sessions on treadmill at vVT_2 (velocity associated to the second ventilatory threshold) with $FiO_2=14.5\%$ (HYP, $n=8$) or with $FiO_2=21\%$ (NOR, $n=7$), integrated into their usual training. Before and after training, oxygen uptake and speed at VT_2 , maximal oxygen uptake (VO_{2max}), time to exhaustion (T_{lim}) at vVO_{2max} (minimal speed associated with VO_{2max}) were measured and muscle biopsies of Vastus Lateralis were collected. Muscle oxidative capacities (V_{max}) and sensitivity of mitochondrial respiration to ADP (K_m) were evaluated on permeabilized muscle fibers. T_{lim} , VO_2 at VT_2 and VO_{2max} were significantly improved in HYP (+42%, +8%, +5% respectively) but not in NOR. No increase in muscle oxidative capacity was obtained with either training protocol. However, mitochondrial regulation shifted to a more oxidative profile in HYP only as shown by the increased K_m for ADP (NOR: before 476 ± 63 , after $524\pm 62\mu M$; HYP: before 441 ± 59 , after $694\pm 51\mu M$, $p<0.05$). Thus including hypoxia sessions into the usual training of athletes qualitatively ameliorates mitochondrial function by increasing the respiratory control by creatine. Providing a tighter integration between ATP demand and supply, this qualitative adaptation could contribute to improve endurance capacity after IHT in trained athletes.

INTRODUCTION

Hypoxia and physical exercise are two independent potent metabolic stressors (1) that induce adaptations of the O_2 supply and utilization at the whole body, tissue as well as molecular levels. For this reason, in order to cumulate benefits of both stimuli, training under hypoxic conditions is widely used to improve athlete aerobic performance linked to peripheral adaptations. The “living low-training high” (LLTH) method that consists in performing only the training sessions under hypoxia, have provided significant improvement in $\dot{V}O_{2max}$ (22, 28). In addition, in muscle of sedentary humans subjected to LLTH protocols, increased mitochondrial densities, capillary-to-fiber ratios, fiber cross-sectional areas, activities of oxidative enzymes like citrate synthase (CS), capillary density and higher myoglobin content have been reported (7, 16, 22, 36, 44). In athletes however, the loss of efficiency mainly due to lower training intensities, and the lack of convincing effects in competitive performance is often pointed out (12, 20, 29). Moreover improvements in performance seems to be obtained with LL-TH only when hypoxic training sessions are of sufficient duration and intensity (typically above VT_2) (37), but not for lower work rates (42).

To take into account these inconveniences, an intermittent hypoxic training program (IHT) has been proposed, whose specificity is the combination of hypoxic and normoxic training sessions performed by trained athletes, run at vVT_2 for at least 2x12 min per session twice a week (42) (see Dufour et al. Part I). Although this new training protocol was without effect on maximal power output and hypoxic maximal work capacity in a previous study (42), the combination of hypoxic stimulation during exercise with the preservation of high workloads during the normoxic sessions could be expected to induce beneficial effect on aerobic performance, especially when the ability to sustain longer the minimal velocity associated with $\dot{V}O_{2max}$ (T_{lim}) is considered. Indeed, we show in the accompanying paper (Dufour et al, part I) that introducing hypoxic training sessions in the usual training activity of trained athletes greatly improved T_{lim} , thus opening the question of the muscular mechanisms

accompanying the observed improvement in endurance performance capacity. Although muscle oxidative capacity is a major component of endurance performance, after several years of endurance training, it seems that athletes reached the limit of their adaptive potential concerning quantitative aspects of the muscular oxidative capacities (26). At the cellular level, endurance capacity is associated with reorganization of muscle fiber cytoarchitecture as well as quantitative and qualitative mitochondrial adaptations. Such changes are expected to limit perturbations of homeostasis like the decrease of the ATP/ADP ratio, to improve oxidative ATP supply, and to delay the participation of anaerobic glycolysis to energy supply. On the other hand, it is now clearly established that low sensitivity of mitochondrial respiration to cytosolic ADP and the control of respiration by the creatine kinase (CK) system with mitochondrial CK (mi-CK) as an ultimate element, is a hallmark of fatigue resistant oxidative muscle (18, 40). This tissue-specificity of the control of mitochondrial respiration permits the highly oxidative muscle to respond to ATP utilization by modifying energy fluxes through the creatine kinase shuttle on a “pay as you go” basis, mitochondria being less sensitive to cytosolic ADP levels but more sensitive to the local PCr/Cr ratios (43). This allows close control of mitochondrial regulation by energy consumption at the sites of excitation-contraction coupling. It has been recently established in animal models and in human subjects that increasing aerobic performance requires both quantitative and qualitative adaptations of mitochondrial function (38, 49, 50). These qualitative modulations of mitochondrial function involve decreased sensitivity of mitochondrial respiration to cytosolic ADP, and increased coupling to phosphotransfer kinases. They are necessary components of skeletal muscle adaptation to endurance training thought to participate in a better integration of ATP demand and supply (38, 49, 50).

Accordingly, we hypothesized that qualitative changes of mitochondrial function could be a critical mechanism of muscular metabolic adaptation induced by a training protocol capable of increasing the maximal endurance capacity (T_{lim}) of athletes.

Thus the goals of the present study were:

1) to investigate whether the increased aerobic performance capacity of already trained athletes, after a training program including moderate hypoxia stimulation, is accompanied by changes in the sensitivity to ADP and creatine of muscle mitochondria.

2) to verify whether alterations of one or more of the parameters of mitochondrial function are linked to the improvement in aerobic performance.

METHODS

Subjects

15 highly trained male distance runners accepted to participate to the study. Biopsies were performed before and after training in 15 subjects. Among them, 8 trained with two weekly hypoxic training sessions and formed the hypoxic group (HYP, $n = 8$), 7 trained without hypoxic sessions and formed the normoxic group (NOR, $n = 7$). Both groups had similar anthropometrical characteristics (Table 1). Anthropometrical measurements comprised the percentage of body fat mass (11). All subjects gave their written consent to the study and were fully informed about its potential risks. All experiments were approved by our institution's ethics committee.

Experimental Design

Prior and following the training period, all subjects performed: 1) an incremental treadmill test to exhaustion at sea level ($F_{iO_2} = 21\%$) and at the simulated 3000 m training altitude ($F_{iO_2} = 14.5\%$), in order to assess oxygen consumption at the second ventilatory threshold ($\dot{V}O_2$ at VT_2) and the velocity associated with this threshold (vVT_2), maximal oxygen consumption ($\dot{V}O_{2max}$) and the minimal velocity that elicited $\dot{V}O_{2max}$ ($v\dot{V}O_{2max}$), 2) an constant-load test at $v\dot{V}O_{2max}$ in order to determine the time to exhaustion (T_{lim}). For further

details see Dufour et al (Part I). During incremental and all-out tests athletes breathed normoxic or hypoxic air through a facial Hans-Rudolph mask and VO_2 was assessed by measuring both inspired (FiO_2) and expired (FeO_2). For further details, see Part I.

Subjects were randomly assigned into one of the two groups for 6 weeks and, performed within their usual training program, two weekly training sessions on treadmill at $v\text{VT}_2$ calibrated by the previous incremental tests (see part I). The HYP group ran the two laboratory sessions under simulated normobaric hypoxia ($\text{FiO}_2 = 14.5\%$) by breathing through a face mask providing the hypoxic gas mixture while the NOR breathed room air. An effect on performance induced by mask breathing per se during training is unlikely since its resistance ($0.01\text{W}/6\text{L}\cdot\text{sec}^{-1}$) and increase in dead space is negligible and may only decrease the training effects in HYP. Identical sessions were performed by the control group (NOR) under normoxia ($\text{FiO}_2 = 21\%$). Exercise duration of the sessions at $v\text{VT}_2$ was increased each week (from 2×12 min to 2×20 min) and intensity was readjusted at the 4th week in order to elicit the same heart rate (HR) as at the first laboratory VT_2 session. For further details, see Part I.

Skeletal muscle biopsy

Biopsy samples were taken using the percutaneous Bergström technique after local anaesthesia (lidocaine / lignocaine) as previously described (25). Subjects were asked to refrain from sporting activities 48 hours before the biopsy, which always occurred before any other evaluation test. No complications occurred following biopsies in any subject. The muscle tissue retrieved was rinsed in ice-cold saline, one part was immediately frozen in liquid nitrogen for enzymatic activities and another part served for *in situ* respiration studies. Muscles were kept at 4°C in a solution S (see below) until fiber separation.

In-situ study of mitochondrial respiration

Mitochondrial respiration was studied *in-situ* in saponin skinned fibers as previously described (31, 41). Briefly, fibers were gently separated under binocular microscope in solution S at 4°C (see below) and permeabilized in solution S with 50 µg/ml saponin for 30 min. After being rinsed for 10 min in solution R (see below) to wash-out cytosolic adenine nucleotides and creatine phosphate (PCr), skinned fibers were transferred in a water-jacketed oxygraphic cell (Strathkelvin Instruments, Glasgow, Scotland) equipped with a Clark electrode containing 3 ml of solution R as previously described (25), and basal respiration rate (\dot{V}_0) was measured at 22°C under continuous stirring. ADP-stimulated respiration (\dot{V}_{ADP}) above \dot{V}_0 was measured by stepwise addition of ADP as phosphate acceptor (from 10 to 2000 µM) with or without creatine (20 mM). The apparent K_m values for ADP were calculated using a non-linear mono-exponential fitting of the Michaelis-Menten equation. Non-linear fitting for K_m assessment in skinned muscle fibers is an appropriate fitting method giving consistent results and yielding correlation coefficients ≥ 0.99 for each measurement. Moreover, it gives an equal weight to each experimental measurement avoiding the disadvantages of linear fitting that overweight the extreme points compared to the others. Maximal respiration rate (\dot{V}_{max}) was calculated as ($\dot{V}_{ADP} + \dot{V}_0$). The acceptor control ratio (ACR) was calculated as $\dot{V}_{max} / \dot{V}_0$. A representative skinned-fiber respiration experiment with increasing amounts of ADP and the corresponding Michaelis-Menten fit is presented in figure 1.

Following these ADP additions, functioning of various complexes of the electron transport chain function was also assessed. Addition of 2 mM amytal, a specific inhibitor of complex I, followed by 25 mM succinate allowed estimation of the maximal respiration from complex II, III and IV (\dot{V}_{succ}). Thereafter, TMPD (0.5 mM) and ascorbate (0.5 mM) were added to estimate only maximal respiration from complex IV ($\dot{V}_{TMPD - Asc}$, cytochrome oxidase complex (Cox)). The $\dot{V}_{TMPD - Asc} / \dot{V}_{max}$ ratio, which represents the amount of excess respiration, is an expression of the Cox excess (14).

Both solutions R and S contained: 2.77 mM CaK₂EGTA, 7.23 mM K₂EGTA (100 nM free Ca²⁺), 6.56 mM MgCl₂ (1mM free Mg²⁺), 20 mM taurine, 0.5 mM DTT, 50 mM K-methane sulfonate (160 mM ionic strength), 20 mM imidazole (pH 7.1). Solution S also contained 5.7 mM Na₂ATP and 15 mM creatine phosphate. Solution R contained 3 mM phosphate, 2 mg ml⁻¹ fatty acid-free bovine serum albumin, 2 mM malate, and 5 mM glutamate. After the experiments, fibers were harvested, dried and weighted to express respiration rates as $\mu\text{mol O}_2.\text{min}^{-1}.\text{(g dry weight)}^{-1}$.

Enzyme analysis

Part of the frozen muscle samples were weighted, homogenized into ice-cold buffer (30 mg.ml⁻¹) containing 5 mM Hepes, 1 mM EGTA, 5 mM MgCl₂ and 0.1 Triton X-100 (pH 8.7) and incubated for 60 min at 0°C to ensure complete enzyme extraction. Citrate synthase (CS) activity was determined according to Srere (34) and cytochrome oxidase activity was assayed according to Wharton and Tzagoloff (48) at 30°C and pH 7.5 by spectrophotometric analysis.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed by using the Sigmastat 3.0 software. To test for both treatment (hypoxia vs. normoxia) and time (before vs. after) effects on each of the measurements during the training period, we used a two-way ANOVA for repeated-measures followed by a Student-Newman-Keuls *post hoc* procedure. Data are means \pm standard error of the mean (SEM). Differences were considered to be significant for $p < 0.05$.

RESULTS

Exercise tests

Both maximal oxygen consumption ($\dot{V}O_{2\max}$) and oxygen consumption at the second ventilatory threshold ($\dot{V}O_2$ at VT_2) were significantly improved by training in the HYP group only, as shown in Table 2. Moreover, the time the subjects were able to sustain $v\dot{V}O_{2\max}$ until exhaustion (T_{lim}) was markedly longer after training in the HYP group only (+ 41.7%; $p = 0.001$) as depicted in Figure 2.

Mitochondrial function

Mean basal respiration rates in the absence of the phosphate acceptor ADP (\dot{V}_0) and mean maximal respiration rates at saturating ADP concentration (\dot{V}_{\max}), which characterize the muscle oxidative capacities, were similar in both groups before training (Figure 3). None of these quantitative parameters were improved after six weeks, whatever the training modality. The acceptor control ratio (\dot{V}_{\max}/\dot{V}_0), representing the coupling between oxidation and phosphorylation, was similar in the two groups before training (NOR: 5.4 ± 0.6 ; HYP: 5.2 ± 0.7) and remained unchanged after training (NOR: 6.4 ± 1.1 ; HYP: 5.1 ± 0.7).

Mean K_m values for ADP are presented in Figure 4 in the absence or presence of creatine. Before training, both groups presented high and similar K_m values without creatine (inversely proportional to ADP sensitivity). In both groups, addition of creatine to stimulate mitochondrial creatine kinase (mi-CK), significantly decreased the K_m (K_{m+Cr}) values to a similar level. As expected, the fivefold increase in ADP sensitivity with creatine indicates an efficient mi-CK coupling with oxidative phosphorylation in the muscle of these highly trained subjects (50).

After training, the K_m values significantly increased in the HYP group only, reaching values higher than in the NOR group (+57%; $p=0.001$). Interestingly, in the HYP group, pre- and post-training K_m and T_{lim} individual values disclosed a consistent pattern of simultaneous increase after hypoxia training (Figure 5, panel B), that was not found after normoxia training (Figure 5, panel A). However the changes of K_m values did not correlate with those in T_{lim}

values. After training, the ratio K_m/K_{m+Cr} , which reflects the efficiency of mi-CK and oxidative phosphorylation coupling, increased two-times more in HYP (+124%; $p = 0.005$) than in NOR (+66%; $p = 0.04$).

Assessment of the different complexes of the mitochondrial electron transport chain is shown in Table 3. The ADP-stimulated maximal respiration under succinate (V_{succ}) and the ratio V_{succ}/\dot{V}_{max} remained unchanged after training in both groups. Respiration rate under TMPD-Ascorbate ($VTMPD-Asc$) as well as the $VTMPD-Asc/\dot{V}_{max}$ ratio were similar in both groups and did not change whatever the training modality, showing neither specific adaptation nor deterioration at the electron transport chain level after both training modalities.

Enzyme activities

Enzymes activities are presented in Table 3. The Krebs cycle enzyme citrate synthase (CS) as well as the complex of the respiratory chain Cox activities were similar in both groups and remained unchanged by the six weeks training.

DISCUSSION

Major findings

This study shows that skeletal muscle mitochondrial adaptations accompany exercise performance improvements in already trained athletes after the present intermittent hypoxic training program (IHT). While oxidative enzyme activities (CS and Cox), as well as muscle oxidative capacity (\dot{V}_{max}) remained unchanged, the control of mitochondrial respiration by cytosolic ADP (higher K_m) was depressed after IHT only.

Taken together, these results suggest that in already trained athletes with high muscular oxidative capacities, qualitative rather than quantitative adaptations of skeletal muscle metabolism are still to be obtained after an IHT. These qualitative adaptations could

participate in the increase of the endurance performance by improving integration of energy demand to utilization.

Normoxic and hypoxic training and performance

As presented in Part I of this study (Dufour et al) and reported in Table 1, maximal oxygen uptake and oxygen uptake at the ventilatory threshold were significantly improved by training in the HYP group only. Moreover, improved endurance performance capacity was also clearly observed as a prolonged time to exhaustion at the pre-training minimal velocity eliciting $\dot{V}O_{2\max}$ in HYP group only. Thus, despite minimal hypoxic exposure, this IHT program demonstrated a major training effect in competitive runners (see Dufour et al for further discussion).

Physiologic consequences of the normoxic training programs on muscle oxidative capacity

Although it is well known that endurance training results in improvement in exercise capacity and muscle oxidative capacities when either ultrastructural (6, 39), biochemical (15) or functional parameters (46, 50) are examined, the present normoxic training protocol increased neither $VO_{2\max}$ and T_{lim} at $v \dot{V}O_{2\max}$, as reported by Dufour *et al.* (part I of the present study), nor any biochemical or functional markers of mitochondrial content. The origin of this difference may arise from one main reason: the training protocol, corresponding to the usual training of the athletes, did not include increased load or duration of training nor decrease the mechanical component of the training load compared to the normal activity of the athletes. Effects obtained in the HYP group could thus be mainly attributed to the added hypoxic stimulus.

Lack of quantitative changes of mitochondrial function after the Intermittent Hypoxic Training program

The measure of mitochondrial respiration *in situ* (\dot{V}_{\max}) as well as cytochrome oxidase (Cox) and CS activities showed that replacing two normoxic sessions of the usual training by two

moderately hypoxic sessions at the same relative intensity did not change the muscle maximal oxidative capacity (quantitative changes) of endurance athletes. In the past, ultrastructural mitochondrial density and CS as a flux-generating enzyme in the Krebs cycle have been used, together with the Cox activity, as markers of maximal oxidative capacity (24). Therefore our results suggest that no increase in mitochondrial density occurs after hypoxic training in already well-trained subjects, despite improvement in their endurance capacity (i.e. Tlim). These results contrast with previous studies showing an increase in mitochondrial content following hypoxic training (13, 44). The most likely explanation for these apparent discrepancies is that the latter were carried out on initially untrained animals or human subjects (13, 16, 22, 46), and reflect both training and hypoxia effects.

Together with the results obtained in the NOR group, this suggests that quantitative adaptations of the mitochondrial network to endurance training may progressively level-off as oxidative capacity increases. This may appear despite further exposition of muscles to the mechanical and metabolic stimuli induced by training and/or hypoxia. It is possible that Vastus Lateralis muscles of these trained athletes may have reached the maximal oxidative capacity that is possibly induced by training. Actually, oxidative capacity of less trained subjects ($7.9 \pm 0.5 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{g dry weight})^{-1}$) (50), was similar to the one observed in the present study (NOR: 8.2 ± 0.7 ; HYP: $8.0 \pm 0.7 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{g dry weight})^{-1}$) despite a $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ $12 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ lower than in the present groups, strongly arguing for an upper limitation of mitochondrial content following intense training (26). The acceptor control ratio also remained unchanged in both groups, suggesting that the electron transport to phosphorylation coupling was not further improved compared to less trained subjects (50). The particular aspects of the chosen programs lie in the fact that first, the subjects were already endurance trained athletes and second, the hypoxic exposition was limited ($\text{FiO}_2 = 14.5\%$, duration $< 80 \text{ min}$ per week). On the other hand, the results are also in accordance with the observation that hypoxia hardly affects mitochondrial function. Hypoxic stress

stabilizes and activates the hypoxia inducible transcription factor (HIF-1). This transcription factor mainly activates the transcription of genes coding for glycolytic enzymes and angiogenic factors but hardly modify mitochondrial proteins (17). Nevertheless, the possibility that longer training duration may further modify the quantitative parameters of mitochondrial respiration needs further investigations. Altogether, this suggests that, for already trained subjects, either the skeletal muscle plasticity allows quantitative adaptations of mitochondrial oxidative capacity up to a plateau and levels off thereafter, or hypoxic stimulus does not improve mitochondrial content.

Qualitative changes of mitochondrial function after the Intermittent Hypoxic Training program.

Although improved muscle performances rely in part on increased mitochondrial content and oxidative capacity, we and others have recently shown that organization of intracellular energy fluxes is an integral part of muscle phenotype and of adaptation to endurance training (43, 46, 49, 50). The main observation of this study is a critical modification of the regulation of mitochondrial respiration by ADP and creatine after IHT. It is noteworthy that the apparent K_m for ADP (inversely proportional to the affinity of mitochondria for ADP) was already high in the two groups in accordance with previous results obtained for highly trained athletes compared to untrained subjects (47, 50). In addition it was more than 50% higher after integration of hypoxic sessions into the usual training program of athletes. The fact that quantitative and qualitative characteristics of mitochondrial respiration are not always co-regulated could be already suspected from our previous study (50), where only mitochondrial quantitative adaptations were observed with the increase in training status (comparison sedentary vs. active subjects) whereas supplemental qualitative adaptations appeared with regular endurance training (comparison between active and athletic subjects). This apparent K_m for ADP, has been shown to be related to the metabolic profile of the muscle, being higher in muscle with higher oxidative capacity (4, 18, 31, 40, 43, 49). In such oxidative muscles,

addition of creatine decreases the K_m for ADP, indicating that ATP production is then coupled to PCr resynthesis within the intermembrane space. Thus the decrease in sensitivity to external ADP, together with the ability of creatine to increase the respiratory effects of ADP as a phosphate acceptor, is a hallmark of oxidative muscle fibers. In these fibers, cytosolic ADP is no longer the main stimulus of mitochondrial respiration that is then driven by the local Cr/PCr ratio with mi-CK being coupled to ATP production and translocation. In the mixed human Vastus Lateralis muscle, a decrease in mitochondrial sensitivity to cytoplasmic ADP appears either with training or with increasing activity levels (38, 46, 50). Moreover, consistent with the higher K_m/K_{m+Cr} values which has been shown in the trained subjects by Zoll et al. (50), the dramatic increase of the K_m/K_{m+Cr} ratio in HYP (+124%) underlines the critical role of mitochondrial creatine kinase (mi-CK) coupled to ATP production. This increase in mi-CK coupling to oxidative phosphorylation enhances the transfer of the phosphate moiety to PCr and ADP is recycled to oxidative phosphorylation. This allow amplification of the ADP signal for stimulation of mitochondrial respiration, so that a smaller cellular ADP signal is necessary to stimulate respiration in intact muscle when CK is active. Mathematical modeling has shown that in cells where mi-CK is coupled to adenylyl nucleotide translocase and where there is a restricted access of ADP to the mitochondrial intermembrane space, the sensitivity of cellular respiration to the PCr/ATP ratio is increased (30). Therefore O_2 uptake in these cells is also driven by lower local changes in ATP/ADP ratio. This explains the long held observation that the sensitivity of intact muscle cell respiration to global changes in ATP/ADP ratio, and therefore to ADP, increases with training (9). In oxidative muscles, PCr is then shuttled by cytosolic CK and ultimately transferred by the bound MM-CK to ADP produced locally by the ATPases, thus ensuring a better coupling between energy production and utilization (32, 45). The Cr/PCr system thus functions as a low threshold ADP sensor functionally coupling energy production to energy utilization.

Such an increase in energy channeling within the cell may have happened after hypoxic training in the Vastus Lateralis of endurance runners.

As suggested by the concomitant increase of both K_m and T_{lim} in the HYP group, this may further improve energetic performance, without necessarily increasing mitochondrial mass. Although this interpretation should be made with caution (absence of significant correlation between the changes in K_m and T_{lim}) it clearly warrants further investigations. Indeed, the Vastus Lateralis muscle of already trained athletes may be quite optimally stocked with mitochondria and further increase in mitochondrial mass would develop at the expense of sarcomeres and other organelles. Thus, better coupling of energy production to energy utilization by the creatine kinase system may provide an increase in mitochondria energetic efficiency and an improvement of muscle performance without changes in mitochondrial content. This seems to be the case after hypoxia training in our subjects. The hypoxic training sessions may be the source of lower intracellular PO_2 and reduced O_2 diffusion gradients to the mitochondria as discussed by Dufour et al. (Part I). Adaptation of mitochondrial function towards a more efficient coupling between energy utilization and the local energy production units may help to maintain longer the cellular homeostasis with high local ATP/ADP ratios, and may delay the use of anaerobic energy production and accumulation of protons.

The signals producing these cellular changes remain unclear at present. It is already known that training at low PO_2 results in a higher production of oxidants, generated by both the electron transport chain (ETC) and the NADPH oxidase in rats (3). Bailey et al. (1) showed in already trained athletes ($\dot{V}O_{2max}$ above $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$) that similar intermittent hypoxic training, in terms of simulated altitude and exercise intensity, increased $\dot{V}O_{2max}$ and lipid peroxidation with free radicals generation by lower mitochondrial PO_2 . They proposed that oxidative stress might be considered as a biological prerequisite for performance adaptation. Reactive oxygen species (ROS) are generated by each complex of the ETC under hypoxia and the effects of moderate ROS fluctuations may play a role as regulatory mediators of cell

signaling processes (8, 17, 23, 35). Thus, ROS production may be involved in modifying mitochondrial function and cytoarchitecture (30).

Complexes of the electron transport chain

We found no change in the intrinsic functional properties of individual respiratory chain complexes in skeletal muscle of already well-trained athletes after both normoxic and hypoxic training. This original observation suggests that IHT did not result in permanent deleterious effect on complexes of the ETC. According to previous studies, several potentially deleterious effects on complex I and IV could be suspected to have occurred: it has been reported that low SaO₂ increases the proportion of the inactive isoform of complex I with a resulting higher mitochondrial [NADH] (2) in turn reducing the complex II inhibition by oxaloacetate (21). According to our observations this is unlikely to have occurred in our subjects. Additionally, V_{TMPD-ASC} is shown to be more than 50% reduced under hypoxic conditions (5, 10). However, persistent changes in Cox enzymatic activity are unlikely, as we did not observe changes in V_{TMPD-ASC} and COX activity whatever training modality. Thus we assume that our training protocols did not impair the mitochondrial complexes of the ETC.

Limitation of the study

Only the HYP group used a mask while training under hypoxia. By inducing a specific work of the respiratory muscles, the mask might be responsible for a potential effect on performance improvement. A healthy subject, with anthropometrical characteristics comparable to our subjects (31 years old, 181 cm, 71 kg), could be estimated to have a theoretical maximal inspiratory pressure (PI_{max}) equal to 108.43 cmH₂O. In fact, 15% (mostly 30%) of the PI_{max} (16.23 cmH₂O in this case) is reported to be the minimal resistance required to induced a significant respiratory muscle work resulting in endurance performance improvement (for review see ref.(33)). In the practical conditions of the present study, the

Hans-Rudolph valve (ref type 2700) is connected to the Altitrainer apparatus by a 1.8 m long pipe. According to the manufacturer information (Hans-Rudolph, 1999), the resistance does not exceed 1.8 cmH₂O when the ventilation is equal to 200 L/min. Therefore, the athletes of the HYP group athletes only experienced 11% of the theoretical minimal resistance needed to expect a respiratory training induced performance improvement (1.8 vs 16.23 cmH₂O). In these conditions, we assumed that the influence of mask breathing on our observed performance improvement is likely to have been limited.

In elite endurance runners, Gastrocnemius and Vastus Lateralis are respectively the first and the second most recruited leg muscles during the entire running cycle (19). For both of them, the fibre distribution, the capillary/fibre ratio as well as the CS and LDH (lactate dehydrogenase) activities values are included in the same range (27). We have chosen to study the Vastus Lateralis muscle for two main reasons: 1) This muscle is far more safer to biopsy compared to the Gastrocnemius one, which is located close to the twin arteries; 2) The Vastus Lateralis muscle is known to be sensitive to the training status in terms of both quantitative and qualitative parameters of mitochondrial function (46, 49). Interestingly, even if this muscle could be considered as less contributive than the Gastrocnemius to the metabolic and mechanical work of running, dramatic changes occurred in the qualitative aspects of the mitochondrial function after IHT. We believed that this point highlights the potential beneficial effect of IHT on the skeletal muscle mitochondrial function.

Important changes of K_m and T_{lim} occurred simultaneously and only after IHT, which, at first sight, suggests a contribution of a higher coupling between energy utilisation and production sites to the T_{lim} improvement. However, probably due to the too small number of subjects per group, these variations of the K_m and T_{lim} values were not statistically correlated. Thus, performing further investigations in more substantial groups seems to be an interesting perspective.

CONCLUSION

Inclusion of two weekly moderate hypoxic training sessions at VT₂ (never exceeding 80 minutes per week) into the usual training of endurance runners induces skeletal muscle mitochondrial adaptations that may contribute to endurance performance improvement (Tlim). Our results suggest that adaptations of the athlete's skeletal muscle to the added hypoxic stress involves a better coupling between the energy utilization and production sites in order to promote more efficient oxidative pathways, and to decrease intracellular energetic perturbations. Then, adaptations of mitochondrial function may reflect regulatory mechanisms underlying improvement of endurance performance capacity in endurance athletes after training with a physiologically controlled intermittent hypoxic training protocol.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank all the athletes for their enthusiastic participation. We are also indebted to the whole laboratory staff from the Department of Respiratory, Cardiocirculatory and Exercise Functional Explorations, for his daily technical support as well as to Valérie Bougault and Frédéric Daussin for their contribution during the training sessions. Moreover, we want to thank Dominique Fortin and Guillaume Bocs from INSERM U-446 for technical assistance.

This project was supported by grants from the International Olympic Committee, the Ministère Français de la Jeunesse et des Sports and the Fondation de France. The scientific and sport coordination were respectively assumed by Pr Jean-Paul Richalet and Mr Laurent Schmitt to whom we express our sincere gratitude.

REFERENCES

1. **Bailey DM, Davies B and Young IS.** Intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci (Lond)* 101: 465-475, 2001.
2. **Bauersachs J, Bouloumie A, Fraccarollo D, Hu K, Busse R and Ertl G.** Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression: role of enhanced vascular superoxide production. *Circulation* 100: 292-298, 1999.
3. **Bejma J and Ji LL.** Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 87: 465-470, 1999.
4. **Bigard AX, Boehm E, Veksler V, Mateo P, Anflous K and Ventura-Clapier R.** Muscle unloading induces slow to fast transitions in myofibrillar but not mitochondrial properties. Relevance to skeletal muscle abnormalities in heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 30: 2391-2401, 1998.
5. **Chandel NS and Schumacker PT.** Cellular oxygen sensing by mitochondria: old questions, new insight. *J Appl Physiol* 88: 1880-1889, 2000.
6. **Demirel HA, Powers SK, Naito H, Hughes M and Coombes JS.** Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *J Appl Physiol* 86: 1002-1008., 1999.
7. **Desplanches D, Hoppeler H, Linossier MT, Denis C, Claassen H, Dormois D, Lacour JR and Geysant A.** Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on human muscle ultrastructure. *Pflugers Arch* 425: 263-267, 1993.
8. **Droge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95, 2002.
9. **Dudley GA, Tullson PC and Terjung RL.** Influence of mitochondrial content on the sensitivity of respiratory control. *J Biol Chem* 262: 9109-9114, 1987.
10. **Duranteau J, Chandel NS, Kulisz A, Shao Z and Schumacker PT.** Intracellular signaling by reactive oxygen species during hypoxia in cardiomyocytes. *J Biol Chem* 273: 11619-11624, 1998.
11. **Durnin JV and Womersley J.** Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 32: 77-97, 1974.
12. **Fulco CS, Rock PB and Cymerman A.** Improving athletic performance: is altitude residence or altitude training helpful? *Aviat Space Environ Med* 71: 162-171, 2000.
13. **Geiser J, Vogt M, Billeter R, Zuleger C, Belforti F and Hoppeler H.** Training high--living low: changes of aerobic performance and muscle structure with training at simulated altitude. *Int J Sports Med* 22: 579-585, 2001.
14. **Gnaiger E, Lassnig B, Kuznetsov A, Rieger G and Margreiter R.** Mitochondrial oxygen affinity, respiratory flux control and excess capacity of cytochrome c oxidase. *J Exp Biol* 201: 1129-1139, 1998.
15. **Gollnick PD.** Metabolic regulation in skeletal muscle: influence of endurance training as exerted by mitochondrial protein concentration. *Acta Physiol Scand Suppl* 556: 53-66, 1986.
16. **Green H, MacDougall J, Tarnopolsky M and Melissa NL.** Downregulation of Na⁺-K⁺-ATPase pumps in skeletal muscle with training in normobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 86: 1745-1748, 1999.
17. **Hoppeler H, Vogt M, Weibel ER and Fluck M.** Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. *Exp Physiol* 88: 109-119, 2003.
18. **Kuznetsov AV, Tiivel T, Sikk P, Kaambre T, Kay L, Daneshrad Z, Rossi A, Kadaja L, Peet N, Seppet E and Saks VA.** Striking differences between the kinetics of regulation of

- respiration by ADP in slow-twitch and fast-twitch muscles in vivo. *Eur J Biochem* 241: 909-915, 1996.
19. **Kyrolainen H, Avela J and Komi PV.** Changes in muscle activity with increasing running speed. *J Sports Sci* 23: 1101-1109, 2005.
 20. **Levine BD.** Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol* 3: 177-193, 2002.
 21. **Maklashina E, Kotlyar AB, Karliner JS and Cecchini G.** Effect of oxygen on activation state of complex I and lack of oxaloacetate inhibition of complex II in Langendorff perfused rat heart. *FEBS Lett* 556: 64-68, 2004.
 22. **Melissa L, MacDougall JD, Tarnopolsky MA, Cipriano N and Green HJ.** Skeletal muscle adaptations to training under normobaric hypoxic versus normoxic conditions. *Med Sci Sports Exerc* 29: 238-243, 1997.
 23. **Miranda S, Foncea R, Guerrero J and Leighton F.** Oxidative stress and upregulation of mitochondrial biogenesis genes in mitochondrial DNA-depleted HeLa cells. *Biochem Biophys Res Commun* 258: 44-49, 1999.
 24. **Newsholme E.** Biochemistry for the medical science. edited by Wiley NY, 1983, p. 110.
 25. **N'Guessan B, Zoll J, Ribera F, Ponsot E, Lampert E, Ventura-Clapier R, Veksler V and Mettauer B.** Evaluation of quantitative and qualitative aspects of mitochondrial function in human skeletal and cardiac muscles. *Mol Cell Biochem* 256-257: 267-280, 2004.
 26. **Puntschart A, Claassen H, Jostarndt K, Hoppeler H and Billeter R.** mRNAs of enzymes involved in energy metabolism and mtDNA are increased in endurance-trained athletes. *Am J Physiol* 269: C619-625, 1995.
 27. **Rolf C, Andersson G, Westblad P and Saltin B.** Aerobic and anaerobic work capacities and leg muscle characteristics in elite orienteers. *Scand J Med Sci Sports* 7: 20-24, 1997.
 28. **Roskamm H, Landry F, Samek L, Schlager M, Weidemann H and Reindell H.** Effects of a standardized ergometer training program at three different altitudes. *J Appl Physiol* 27: 840-847, 1969.
 29. **Rusko HR.** New aspects of altitude training. *Am J Sports Med* 24: S48-52, 1996.
 30. **Saks VA, Kuznetsov AV, Vendelin M, Guerrero K, Kay L and Seppet EK.** Functional coupling as a basic mechanism of feedback regulation of cardiac energy metabolism. *Mol Cell Biochem* 256-257: 185-199, 2004.
 31. **Saks VA, Veksler VI, Kuznetsov AV, Kay L, Sikk P, Tiivel T, Tranqui L, Olivares J, Winkler K, Wiedemann F and Kunz WS.** Permeabilized cell and skinned fiber techniques in studies of mitochondrial function in vivo. *Mol Cell Biochem* 184: 81-100, 1998.
 32. **Saks VA, Ventura-Clapier R, Leverve X, Rossi A and Rigoulet M.** What do we not know of cellular bioenergetics?--a general view on the state of the art. *Mol Cell Biochem* 184: 3-9, 1998.
 33. **Sheel AW.** Respiratory muscle training in healthy individuals: physiological rationale and implications for exercise performance. *Sports Med* 32: 567-581, 2002.
 34. **Srere PA.** Citrate synthase. *Methods Enzymol* 13: 3-11, 1969.
 35. **Suzuki YJ, Forman HJ and Sevanian A.** Oxidants as stimulators of signal transduction. *Free Radic Biol Med* 22: 269-285, 1997.
 36. **Terrados N, Jansson E, Sylven C and Kaijser L.** Is hypoxia a stimulus for synthesis of oxidative enzymes and myoglobin? *J Appl Physiol* 68: 2369-2372, 1990.
 37. **Terrados N, Melichna J, Sylven C, Jansson E and Kaijser L.** Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57: 203-209, 1988.
 38. **Tonkonogi M, Harris B and Sahlin K.** Mitochondrial oxidative function in human saponin-skinned muscle fibres: effects of prolonged exercise. *J Physiol* 510: 279-286, 1998.

39. **Turner DL, Hoppeler H, Claassen H, Vock P, Kayser B, Schena F and Ferretti G.** Effects of endurance training on oxidative capacity and structural composition of human arm and leg muscles. *Acta Physiol Scand* 161: 459-464, 1997.
40. **Veksler VI, Kuznetsov AV, Anflous K, Mateo P, van Deursen J, Wieringa B and Ventura-Clapier R.** Muscle creatine kinase-deficient mice. II. Cardiac and skeletal muscles exhibit tissue-specific adaptation of the mitochondrial function. *J Biol Chem* 270: 19921-19929, 1995.
41. **Veksler VI, Kuznetsov AV, Sharov VG, Kapelko VI and Saks VA.** Mitochondrial respiratory parameters in cardiac tissue: a novel method of assessment by using saponin-skinned fibers. *Biochim Biophys Acta* 892: 191-196, 1987.
42. **Ventura N, Hoppeler H, Seiler R, Binggeli A, Mullis P and Vogt M.** The response of trained athletes to six weeks of endurance training in hypoxia or normoxia. *Int J Sports Med* 24: 166-172, 2003.
43. **Ventura-Clapier R, Kuznetsov A, Veksler V, Boehm E and Anflous K.** Functional coupling of creatine kinases in muscles: species and tissue specificity. *Mol Cell Biochem* 184: 231-247, 1998.
44. **Vogt M, Puntchart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R and Hoppeler H.** Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 91: 173-182, 2001.
45. **Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K and Eppenberger HM.** Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J* 281: 21-40, 1992.
46. **Walsh B, Tonkonogi M and Sahlin K.** Effect of endurance training on oxidative and antioxidative function in human permeabilized muscle fibres. *Pflugers Arch* 442: 420-425, 2001.
47. **Walsh B, Tonkonogi M, Soderlund K, Hultman E, Saks V and Sahlin K.** The role of phosphorylcreatine and creatine in the regulation of mitochondrial respiration in human skeletal muscle. *J Physiol* 537: 971-978, 2001.
48. **Wharton DC and Tzagoloff A.** Cytochrome oxidase from beef heart mitochondria. *Methods Enzymol* 10: 245-250, 1967.
49. **Zoll J, Koulmann N, Bahi L, Ventura-Clapier R and Bigard AX.** Quantitative and qualitative adaptation of skeletal muscle mitochondria to increased physical activity. *J Cell Physiol* 194: 186-193, 2003.
50. **Zoll J, Sanchez H, N'Guessan B, Ribera F, Lampert E, Bigard X, Serrurier B, Fortin D, Geny B, Veksler V, Ventura-Clapier R and Mettauer B.** Physical activity changes the regulation of mitochondrial respiration in human skeletal muscle. *J Physiol* 543: 191-200, 2002.

CAPTIONS TO FIGURES

Fig. 1. Representative respiration experiment in Vastus Lateralis skinned fibers of endurance runners after training under hypoxia (panel A) and normoxia (panel B). Left: decrease in O₂ concentration within the oxygraphic chamber with increasing amounts of the phosphate acceptor ADP. Right: Michaelis-Menten fit of respiration as a function of ADP concentration.

Fig. 2. Time to exhaustion at the pre-training minimal speed eliciting $\dot{V}O_{2max}$ (T_{lim}) before and after 6 weeks of training. * significant difference before vs after training (p<0.05). Data are presented as means ± SEM.

Fig. 3. Basal (\dot{V}_0) and maximal (\dot{V}_{max}) mitochondrial respiratory rates in saponin-treated fibers before and after 6 weeks of training in hypoxia and normoxia. No differences were observed between groups either before or after training. Data are presented as means ± SEM.

Fig. 4. Apparent K_m for ADP (μM), with or without creatine, before and after 6 weeks of training in hypoxia and normoxia. * significant difference after vs. before training (p<0.05). Data are presented as means ± SEM.

Fig. 5. Individual K_m to ADP (in absence of Cr) and T_{lim} values before (open squares) and after (open circles) training in the NOR group (panel A), that trained in normoxia only, and in the HYP group (panel B), that trained under hypoxia for two sessions per week.

FIGURE 1

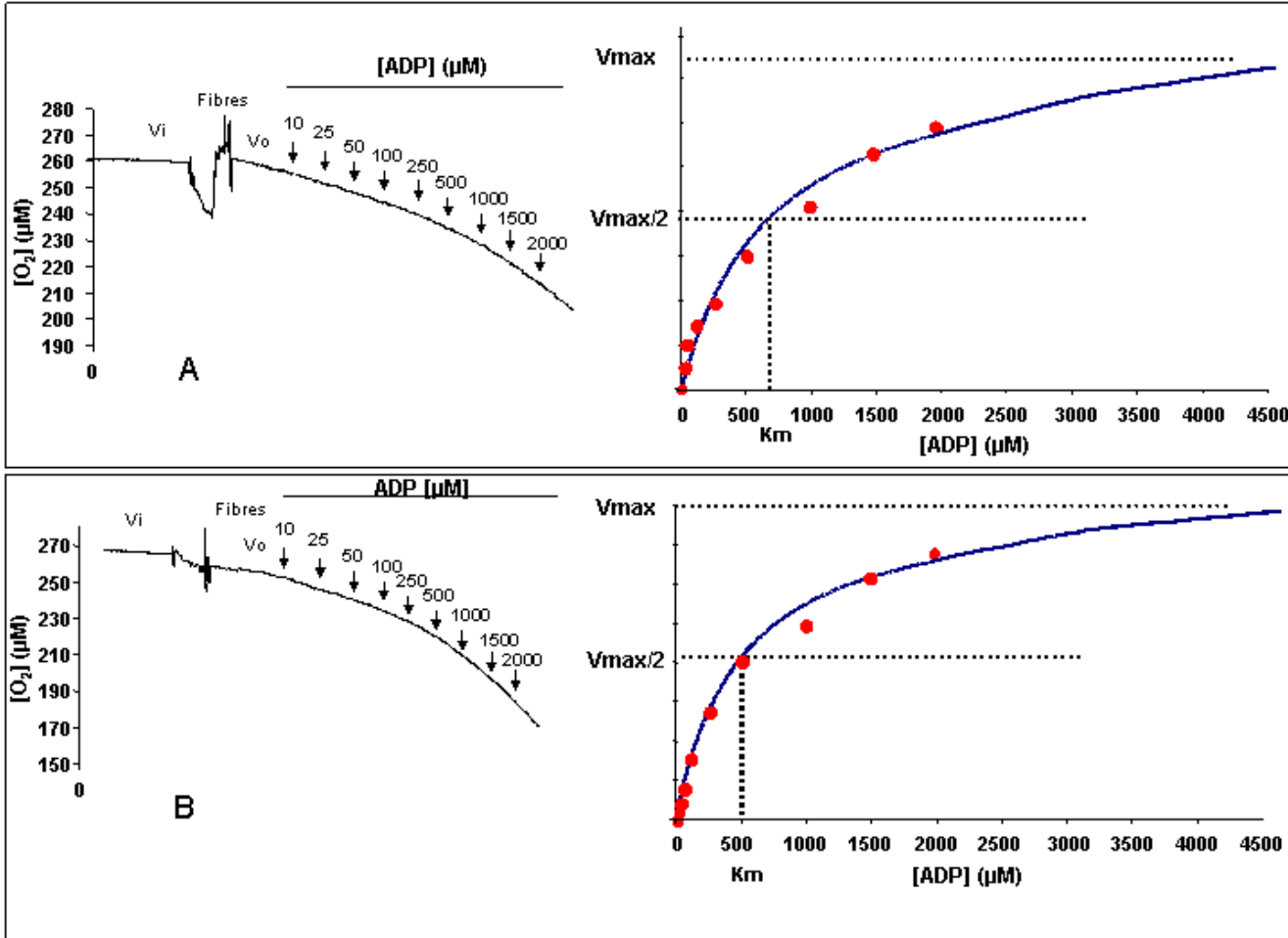


FIGURE 2

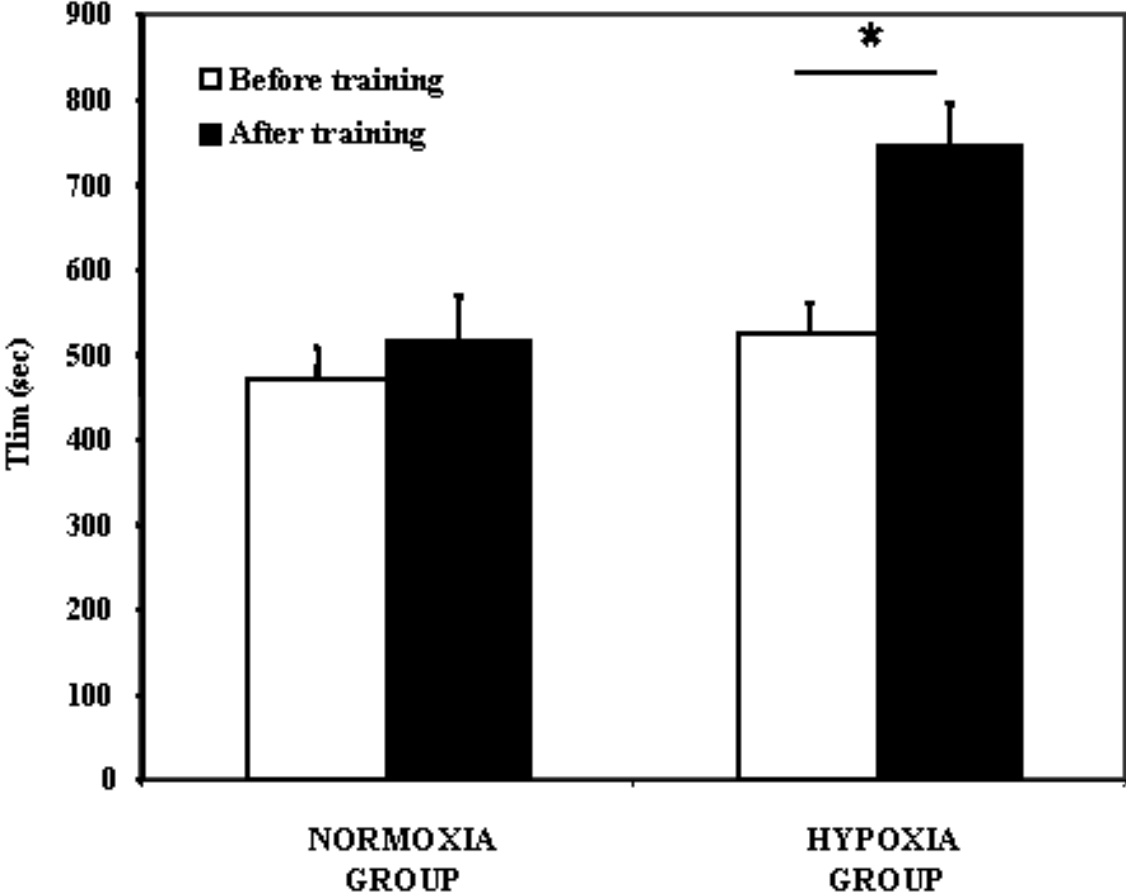


FIGURE 3

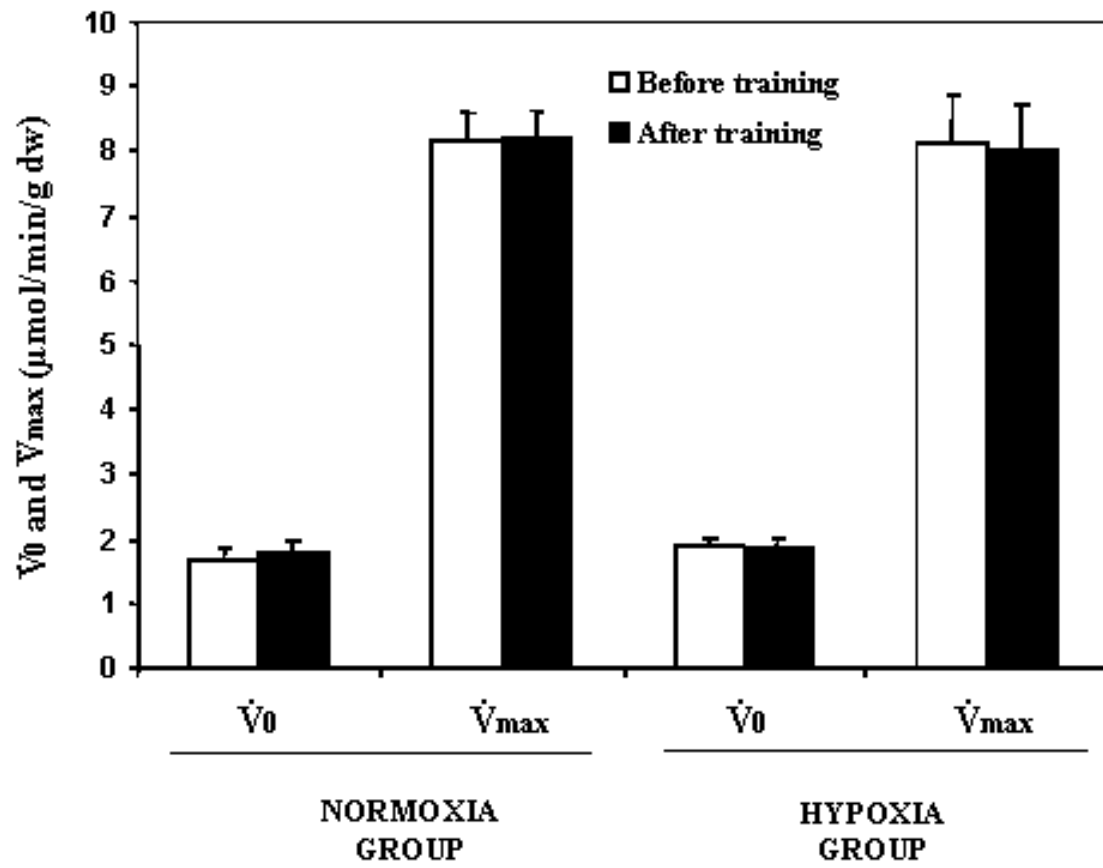


FIGURE 4

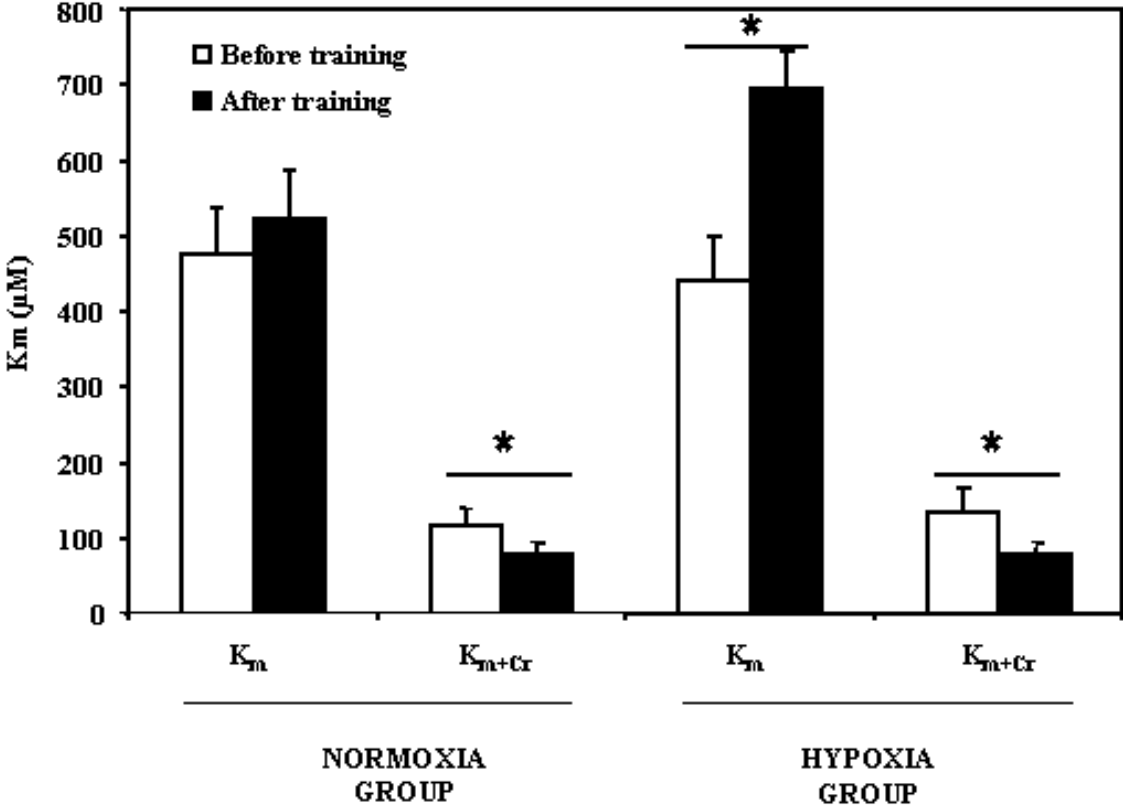


FIGURE 5

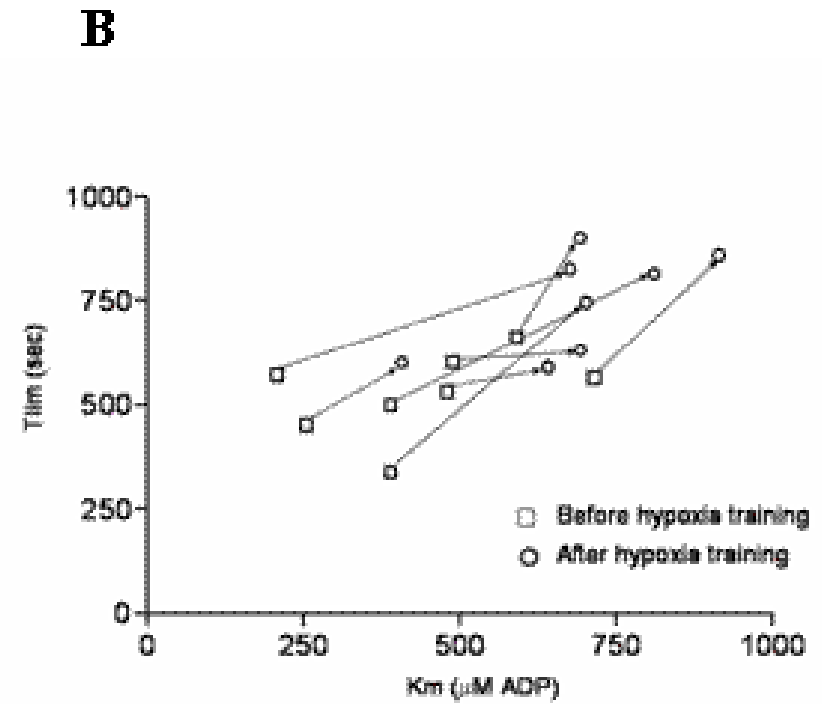
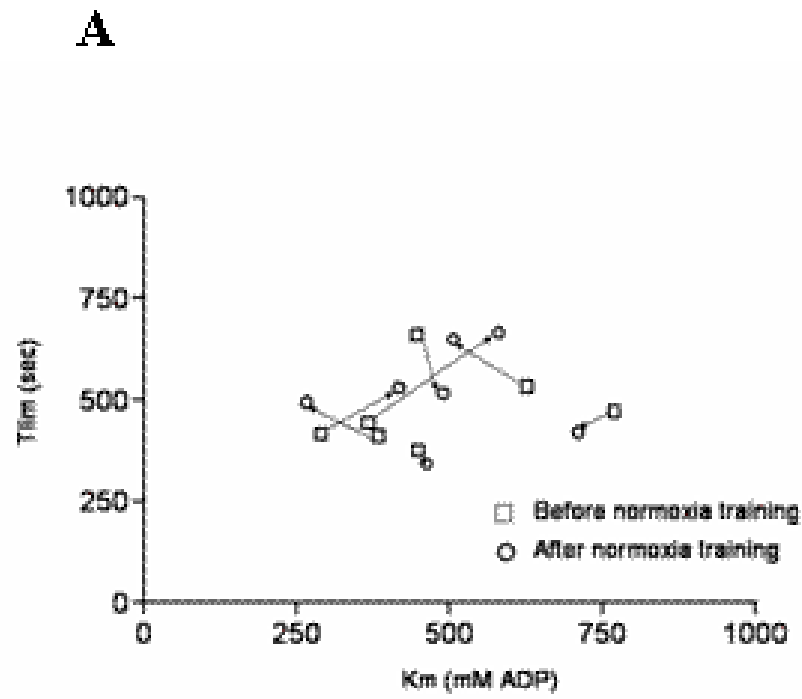


Table 1: Group characteristics

	Groups	
	HYP	NOR
Age (years)	29.9 ± 2.3	31.3 ± 2.3
Weight (kg)	71.1 ± 2.4	71.0 ± 2.9
Height (cm)	181 ± 4	180 ± 2
% Body fat	11.6 ± 1.0	11.9 ± 1.5

Values are means ± SEM; Hypoxia (HYP): $n = 8$; Normoxia (NOR): $n = 7$.

Table 2: Effects of the two training modalities on $\dot{V}O_{2VT_2}$ and $\dot{V}O_{2max}$

	Groups			
	HYP		NOR	
	Before training	After training	Before training	After training
$\dot{V}O_{2VT_2}$ (% of $\dot{V}O_{2max}$)	88.6 ± 0.9	91.3 ± 0.7*	88.8 ± 1.4	89.1 ± 1.3
$\dot{V}O_{2VT_2}$ (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	56.4 ± 1.3	61.1 ± 0.8*	55.0 ± 1.4	55.9 ± 1.0
$\dot{V}O_{2max}$ (ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	63.6 ± 1.1	67.0 ± 1.2*	62.0 ± 1.4	62.8 ± 1.2

Values are means ± SEM; Hypoxia (HYP): $n = 8$; Normoxia (NOR): $n = 7$. Hyp, VT₂ sessions under hypoxia; Nor, VT₂ sessions in normoxia. $\dot{V}O_{2VT_2}$, O₂ consumption at VT₂; $\dot{V}O_{2max}$, maximal O₂ consumption. * Significant difference after vs. before training ($p < 0.05$).

Table 3: Mitochondrial function

	Groups			
	HYP		NOR	
	Before training	After training	Before training	After training
<u>Complexes of electron transport chain</u>				
\dot{V}_{succ}	9.2 ± 0.8	11.7 ± 1.0	10.5 ± 0.6	11.7 ± 0.7
$\dot{V}_{\text{TMPD - Asc}}$	23.7 ± 1.7	22.1 ± 1.1	22.9 ± 2.6	19.2 ± 1.4
$\dot{V}_{\text{succ}} / \dot{V}_{\text{max}}$	1.3 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.1
$\dot{V}_{\text{TMPD - Asc}} / \dot{V}_{\text{max}}$	3.4 ± 0.6	3.3 ± 0.2	2.9 ± 0.4	2.4 ± 0.4
<u>Biochemical data</u>				
Citrate Synthase	19.4 ± 0.4	19.8 ± 0.9	18.3 ± 1.6	16.9 ± 1.7
Cytochrome Oxydase	5.6 ± 1.4	5.5 ± 1.1	4.2 ± 0.6	3.6 ± 0.4

Values are means ± SEM; Hypoxia (HYP): $n = 8$; Normoxia (NOR): $n = 7$. \dot{V}_{succ} and $\dot{V}_{\text{TMPD - Asc}}$ (respiration under succinate and TMPD+Ascorbate respectively) are expressed in $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{g dry weight})^{-1}$. * $p < 0.05$: vs before training. Enzymatic activities are expressed in international units per gram wet weight.

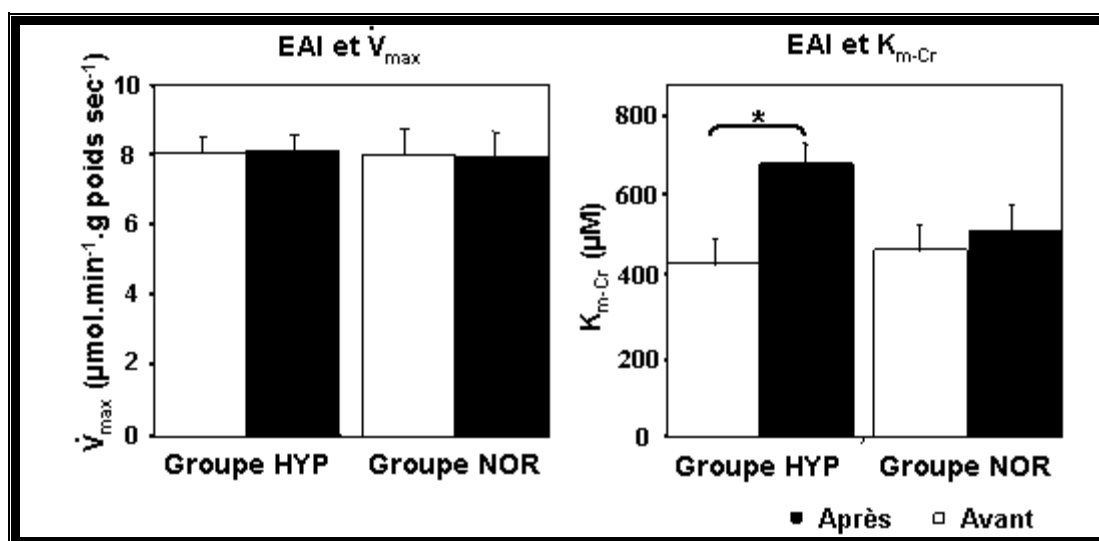


Figure 12: Principaux effets de l'EAI sur la fonction mitochondriale. Seul le groupe d'athlètes entraînés en altitude intermittente a significativement amélioré son $K_{m\text{-Cr}}$ sans modifier sa \dot{V}_{\max} . n=8 pour le groupe HYP et n=7 pour le groupe NOR. *: P<0,05 avant vs. après EAI.

Un premier résultat de cette étude indique que 6 semaines d'EAI, incluant seulement 2 séances d'entraînement hebdomadaires de courte durée (24-40 min) en altitude à $v\text{SV}_2$, ne permettent pas d'améliorer significativement la capacité oxydative musculaire maximale, telle que mesurées par la \dot{V}_{\max} mitochondriale sur fibres perméabilisées *in situ*, et par la détermination de l'activité maximale d'enzymes oxydatives telles la citrate synthase ou la cytochrome oxydase. Le gain de $\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ observé dans le groupe HYP ne peut donc pas être expliqué par une amélioration de la capacité oxydative, suggérant que les mécanismes sous jacents se situent en amont de la respiration mitochondriale.

La présente étude montre également une adaptation du contrôle de la respiration mitochondriale après EAI, telle que mesuré par l'augmentation $K_{m\text{-Cr}}$ (55%) et la diminution du $K_{m+\text{Cr}}$ (42%). Dès lors, la sensibilité de la mitochondrie à la concentration cytosolique en ADP a diminué, et le contrôle exercé par le système de la créatine kinase mitochondriale a augmenté. Le rôle exact de ces adaptations qualitatives de la fonction mitochondriale dans l'allongement du T_{lim} à $v\dot{V}\text{O}_2\text{max}$ reste toutefois à établir, mais celles-ci pourraient être impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire à l'exercice, contribuant ainsi à améliorer la performance.

I.3. Effets sur la transcription au niveau musculaire

I.3.1. Présentation

Les 2 études précédentes décrivent les adaptations fonctionnelles des métabolismes aérobie relevées aux niveaux systémique et cellulaire musculaire respectivement. Elles procurent des pistes potentielles quant aux mécanismes physiologiques impliqués dans l'amélioration de la capacité de performance observée après EAI chez des athlètes. Ces adaptations supposent des modifications structurales et/ou fonctionnelles dans les facteurs principalement périphériques en charge de l'apport et de l'utilisation de l'O₂ au niveau mitochondrial. En parallèle, une amélioration du maintien de l'homéostasie cellulaire au sein des muscles actifs à l'exercice apparaît également comme une voie pouvant contribuer à expliquer comment l'EAI exerce un effet bénéfique sur la capacité de performance aérobie chez les athlètes. Dans ce contexte, la question se pose de savoir comment les stimuli métaboliques supplémentaires générés par l'EAI se traduisent en modifications fonctionnelles, menant à l'amélioration de la performance.

Une des stratégies utilisées par le muscle pour s'adapter à l'entraînement consiste à augmenter les niveaux d'expression génétique, notamment lors de la récupération qui suit la réalisation d'un exercice (Booth *et al.*, 1998; Fluck & Hoppeler, 2003; Hoppeler & Fluck, 2003; Fluck, 2004). Lors du processus d'entraînement, et après la répétition des stimuli métaboliques et mécaniques qui accompagnent les séances, le niveau des ARNm codant pour des protéines impliquées dans des fonctions métaboliques et mécaniques augmente dans le cytoplasme. En conséquence, la production des protéines correspondantes serait activée et permettrait la mise en place des ajustements phénotypiques musculaires (Puntschart *et al.*, 1995; Schmitt *et al.*, 2003). Dans ce contexte, la quantification des ARNm musculaires après entraînement procure des informations essentielles à l'identification des gènes et des mécanismes impliqués dans la réponse du tissu musculaire à l'entraînement. L'objectif de la présente étude est d'utiliser cette méthodologie dans le but de:

- 1) déterminer si les stimuli métaboliques générés par l'EAI sont suffisants pour activer le facteur de transcription oxygène-dépendant HIF-1 et induire une élévation de la transcription de gènes impliqués dans le contrôle de l'équilibre acido-basique cellulaire, la production d'énergie métabolique, le transport d'O₂ intracellulaire et la capillarisation.
- 2) mettre en rapport les améliorations fonctionnelles observées au niveau de $\dot{V}O_{2\max}$ et du Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$ chez les athlètes du groupe HYP avec les niveaux de transcrits musculaires (ARNm).

I.3.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article accepté pour publication

Exercise training in normobaric hypoxia in well-trained athletes: muscular adjustment of selected gene transcripts. Accepté au Journal of Applied Physiology JAP-00359-2005.R1

Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners:

Muscular adjustments of selected gene transcripts

Joffrey ZOLL¹, Elodie PONSOT², Stéphane DUFOUR², Stéphane DUFOUR², Renée VENTURA-CLAPIER³, Michael VOGT¹, Hans HOPPELER¹, Ruddy RICHARD², Martin FLÜCK¹

¹*Department of Anatomy, University of Bern, 3012 Bern, Switzerland*

²*Service de Physiologie Clinique et des Explorations Fonctionnelles Respiratoires et de l'Exercice, Département de Physiologie EA 3072, Strasbourg, France*

³*Cardiologie Cellulaire et Moléculaire U-446 INSERM, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud, 92296 Châtenay-Malabry, France*

RUNNING HEAD: Hypoxia training and muscular transcript levels

Address for reprint request and other correspondence:

Martin FLÜCK,

Department of Anatomy, University of Bern, Bühlstrasse 26, 3000 Bern 9, Switzerland.

Phone, **41 31 631 4619

Fax, **41 31 631 3807

e-mail, flueck@ana.unibe.ch

KEY WORDS: Hypoxia training, athletes, mRNA, redox regulation, glucose uptake

Abstract

We hypothesized that specific muscular transcript level adaptations participate in the improvement of endurance performances following 6-wk intermittent hypoxia training (IHT) in endurance-trained subjects. 15 male high-level long-distance runners underwent a six weeks modified Living Low-Training High program comprising two weekly controlled training sessions performed at the second ventilatory threshold (VT_2) that were integrated into their normal training schedule. The athletes were randomly assigned to either a normoxic (NOR; $FIO_2=20.9\%$, $n=6$) or a hypoxic group exercising under normobaric hypoxia (HYP; $FIO_2=14.5\%$, $n=9$). Oxygen uptake and speed at VT_2 , maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2\max}$), time to exhaustion (T_{lim}) at constant load at $v\dot{V}O_{2\max}$ in normoxia and muscular levels of selected mRNAs in biopsies were determined before and after training. $\dot{V}O_{2\max}$ (+5%) and T_{lim} (+35%) increased specifically in the HYP group. At the molecular level, mRNA concentrations of the hypoxia-inducible factor 1α (+104%), glucose transporter-4 (GLUT-4, +32%), phosphofructokinase (+32%), peroxisome proliferators-activated receptor gamma co-activator 1α (+60%), citrate synthase (+28%), cytochrome oxidase 1 (+74%) and 4 (+36%), carbonic anhydrase-3 (CA3, +74%), and manganese superoxide dismutase (+44%) were significantly augmented in muscle after exercise training in HYP only. Significant correlations were noted between muscular mRNAs levels of monocarboxylate-transporter-1 (MCT-1), CA3, GLUT-4 and T_{lim} only in the group of athletes who trained in hypoxia ($P<0.05$). Accordingly, the addition of short hypoxic stress to the regular endurance training protocol induces transcriptional adaptations in skeletal muscle of athletic subjects. Expressional adaptations involving redox regulation and glucose uptake are being recognized as a potential molecular pathway resulting in improved endurance performance in hypoxia-trained subjects.

Introduction

Hypoxia is an important stimulus related to exercise in muscle tissue (29). Since fifteen years, the “Living Low-Training High” concept (LLTH) which consist in sleeping and living in normoxia but training in moderate hypoxia (~2500 m above sea level), demonstrated training-induced improvement in sea level endurance capacity (23, 37, 39, 40, 54, 55). In untrained or recreationally trained subjects, certain muscular adaptations involving increased citrate synthase activity, mitochondrial density, capillary-to-fiber ratio, and fiber cross-sectional area have been evoked to participate in the increased endurance performance (12, 23, 54).

Nevertheless, a persisting detrimental aspect of LLTH method is that all training sessions are performed in hypoxia. As a consequence, training velocities must be lowered to account for the hypoxia-induced reduction in aerobic power and not to exceed the athlete’s tolerance capacity (37). These deficits may lower any performance advantage gained through altitude-induced improvements in O₂ delivery or utilization. To conciliate hypoxia exposure during training sessions with a maintained training volume, we recently proposed to include controlled high intensity training sessions in hypoxia into a regular normoxic training program performed in normoxia (57). In the first article of our trilogy, we demonstrated that 6-wk intermittent hypoxia training (IHT) protocol leads to better improvements of endurance capacity than normoxic endurance training in well trained runners (Dufour et al). In addition to the usual running training program of athletes, this IHT paradigm comprised two weekly hypoxic training sessions consisting in 2 repeated hypoxic bouts performed at the second ventilatory threshold (VT₂). Such an intermittent high-intensity approach thereby seems to avoid the detraining effects associated with training under permanent hypoxia.

This functional improvement suggested that an adapted IHT realized at VT₂ would enable athletes to optimize the stimuli necessary to achieve central and/or peripheral changes that

enhance O₂ delivery and/or utilization. To date, the critical links between improved running performance and the hypoxic stimulus are not identified. Particularly, it remains to be demonstrated to which extent muscular adjustments are involved in the improvement of endurance capacities following modified hypoxic training in an endurance-trained population.

Adaptations of biological systems related to myocellular functioning were implicated in the superior altitude performance after hypoxia training at reasonable altitude, i.e. 2500 m above sea level, in humans. An enhancement of buffer capacity has been implicated in improved performance of endurance athletes after hypoxia training interventions (43). Other hypoxia-specific muscular responses to endurance training such as improved oxygen delivery and increased oxidative capacity are known to occur in previously untrained individuals (12, 28, 40, 54, 58). High altitude exposure and acclimatization also has been noted to increase utilisation of blood glucose and improve metabolic coupling, whereas increased protection against the reactive oxygen species (ROS) was observed in native Tibetans (9, 24, 25). These adjustments may contribute to the metabolite flux adaptations due to reduced oxygen availability in hypoxia (29, 34).

Increased gene expression during recovery from consecutive bouts of exercise have been recognized as a major muscular strategy for muscular adaptations to training (7, 17, 27, 44, 45). In a training state, after repetition of the exercise stimuli, an accumulation of pre-exercise RNA levels of metabolic factors is matched to structural-functional equivalents of muscular phenotype (47, 51). Steady-state transcript level adaptations therefore provide a sensitive indication for training-specific muscular adjustments with endurance exercise.

We hypothesized that expressional adjustments of distinct biological systems (gene ontologies), can be implied in the muscular adaptations to hypoxia and would link to the observed functional ameliorations of endurance performance of athletes with a modified IHT (Dufour et al., first article of the trilogy). Specifically, we tested whether pre-exercise levels of selected transcripts of those gene ontologies involved in the functional and regulatory

aspects of acid-base control (monocarboxylate transporter 1 (MCT-1) and carbonic anhydrase 3 (CA3)), the oxidative stress defense (manganese superoxide dismutase (MnSOD), Cu-Zn superoxide dismutase (Cu/ZnSOD), glutathione S-transferase P (GSTPi)), the glucose metabolism (glucose transporter 4 (GLUT-4), 6-phosphofructokinase (PFKm)), the mitochondrial biogenesis and metabolism (peroxisome proliferator activated receptor gamma co-activator 1 α (PGC-1 α), mitochondrial transcription factor A (Tfam), citrate synthase (CS), mitochondrial-encoded cytochrome oxidase subunit 1 (COX-1), nuclear-encoded cytochrome oxidase subunit 4 (COX-4)), the oxygen transport (myoglobin (mb); vascular endothelial growth factor (VEGF)) as well as the oxygen signaling (hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α)) would be increased after modified IHT training. Finally, the co-regulation and the correspondence of altered mRNA levels with improved time to exhaustion and maximal oxygen uptake characteristics of hypoxia-trained athletes were tested with correlation analysis.

Methods

Subjects

15 highly trained male distance runners were recruited from local athletic teams and completed the study before the beginning of their competitive season. After all the potential risks were explained, the subjects gave a voluntary written and informed consent to participate to the protocol approved by the institution's ethics committee of the hospital of Strasbourg, France. In the weeks prior to and during the study, all the subjects lived between 100 and 300m above sea level and all were engaged in a regular training schedule including 5 training sessions per week. All were highly motivated to participate in the study, familiar with treadmill running, with current 10,000 m or equivalent personal-best times of < 35:00 (min:s). The athletes were randomly assigned to either the normoxic (NOR) or the hypoxic group (HYP). The subjects constituted a subpopulation of the athletes studied in Dufour et al. (first article of the trilogy). Hence, the functional values were recalculated from athletes engaged in this study.

Experimental Design

Basal medical examination: All athletes received a basal medical examination as already described in the first part of this trilogy (Dufour et al., first article of the trilogy).

Treadmill performance evaluation: All procedure was explained in details in the article of Dufour et al. (first article of the trilogy). Briefly, normobaric hypoxic conditions, corresponding to an altitude of 3,000 meters ($FIO_2=14.5\%$), were simulated by diluting ambient air with nitrogen (Alti Trainer₂₀₀, Sport and Medical Technology, Switzerland). In the week before and after the training intervention, all the subjects performed three exercise tests on a motorized treadmill (Dufour et al., first article of the trilogy). The tests were separated by

at least 24h: 1) a treadmill incremental test to exhaustion in normoxia - IET_N: F_{IO₂}=20.9% - in order to determine the maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2\text{maxN}}$), the first (VT_{1N}) and second (VT_{2N}) ventilatory thresholds as well as their associated velocities ($v\dot{V}O_{2\text{maxN}}$, vVT_{1N} and vVT_{2N} respectively); 2) an incremental exercise test to exhaustion in hypoxia – IET_H; F_{IO₂}=14.5%. - to obtain the same parameters under hypoxic conditions ($\dot{V}O_{2\text{maxH}}$, $v\dot{V}O_{2\text{maxH}}$, VT_{1H}, vVT_{1H} , VT_{2H} vVT_{2H}); 3) An all-out test at $v\dot{V}O_{2\text{maxN}}$ to determine the time to exhaustion (T_{lim}). For a given subject, all tests were performed at the same time of day in a climate-controlled environment (21-23° C).

Ventilatory thresholds were assessed using established criteria (3, 59). VT₁ corresponds to the breakpoint in the plot of $\dot{V}CO_2$ as a function of $\dot{V}O_2$. At that point, the ventilatory equivalent for O₂ ($\dot{V}E/\dot{V}O_2$) increases without an increase in the ventilatory equivalent for CO₂ ($\dot{V}E/\dot{V}CO_2$). VT₂ was located between VT₁ and $\dot{V}O_{2\text{max}}$, when the $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ starts to increase while $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ continues to increase.

During the IET, the initial running speed was set at 10 km/h and step were increased every 2-min by 1 km/h until exhaustion occurs. Each subject was encouraged to give a maximum effort.

The all-out running test was performed at the same absolute running speed before and after training corresponding to pre-training $\dot{V}O_{2\text{max}}$. The test began by 10-min warm-up at 60% of the subject's $\dot{V}O_{2\text{max}}$. The subject was then equipped during a 5-min period of rest and immediately asked to run at his corresponding $\dot{V}O_{2\text{max}}$ for as long as possible (T_{lim}).

Training program: During the 6 weeks of the study, both groups continued their usual running training program (5 sessions a week) including two weekly VT₂ sessions that were performed in the laboratory. A total of 12 laboratory-training sessions were performed during the 6 weeks. At the beginning of the study and according to the training environment, the

HYP group trained at a significantly lower running speed (15.4 in HYP vs 16.8 km·h⁻¹ in NOR, $P < 0.05$). These different running speeds corresponded to the same exercise heart rate expressed in absolute (HYP: 166±3 vs. NOR: 172±3 beats per minute) or relative value (HYP: 96±1 % vs. NOR: 94±1 %). Each VT₂ sessions begun by 10-min warm-up at 60% $\dot{V}O_{2\max}$, followed by two periods at vVT_2 , separated by 5-min recovery at 60% $\dot{V}O_{2\max}$. During the first three weeks of training, exercise duration at vVT_2 was increased each week: 2 × 12 min for the first week (week 1), 2 × 16 min for week 2, 2 × 20 min for week 3. At the 4th week, vVT_2 was increased to achieve the same heart rate (HR) as in week 1 but maintained for 2 × 12 min. Thus, training volume was subsequently again increased weekly at the new vVT_2 for 2 × 16 min for week 5 and 2 × 20 min for week 6.

For the group who trained in normoxia (NOR), vVT_{2N} was determined during the IET_N and for the group who trained in hypoxia (HYP), vVT_{2H} was determined during the IET_H. For the HYP group, subjects trained under hypoxic conditions only during the running periods at vVT_{2H} , by breathing through face masks connected to a mixing chamber via appropriate tubing. NOR group received the training at vVT_2 without the facemasks.

Evaluation of usual training: All the runners were asked to report their individual training schedule into detailed training logs including duration, distance and intensity of each training sessions. Laboratory as well as fieldwork bouts were taken into account in order to provide both quantitative and qualitative characterization of the total training period. The duration and intensity of the training sessions performed out of the laboratory were assessed based on the running velocity and divided in four intensity zones: low ($<vVT_1$), moderate (vVT_1 - vVT_2), heavy (vVT_2 - $\dot{V}O_{2\max}$), severe intensity ($> \dot{V}O_{2\max}$) (for details see table 2 in Dufour et al. first article of the trilogy).

Blood Lactate

Blood samples were obtained from earlobe at rest as well as at the first and third minute of recovery after the treadmill incremental and constant-load tests to exhaustion. They were immediately analyzed by an enzymatic method (ABL 700 series, Radiometer, Denmark).

Muscle biopsy samples

Using the Bergström technique (31), biopsies were taken at midhigh level from *vastus lateralis* muscle before and after the 6-wk training period. Before the biopsies, there were 48 hours without any exercise activity. For mRNA analysis, the major part of the muscle tissue was immediately frozen in isopentane cooled by liquid nitrogen, and then stored in the latter until required for analyses. The other part was processed for enzyme activities analysis and histochemistry.

Enzyme analysis

Part of the frozen tissue samples were weighed, homogenised into ice-cold buffer (30 mg/ml) containing (mM): HEPES 5, EGTA 1, MgCl₂ 5, and Triton X-100 (0.1 %), pH 8.7 and incubated for 60 min at 0°C to ensure complete enzyme extraction. Citrate synthase and cytochrome-c oxidase were assessed by standard spectrophotometric methods.

Histochemistry

12µm cryostat cross-sections were processed for myofibrillar ATPase (alkaline or acid pre-incubation at pH 10.4 and pH 4.5) as described (6). Consistently with the proposition of Berchtold et al (5), the muscle fibers were classified into type I, IIA and IIB(IIX) fibers. The percentage of each fiber type was obtained from stained sections. One to three sections from different areas of each muscle biopsy were analyzed, depending on the size of the specimens. All the fibers that appeared reasonably cross-sectioned (minor to major fiber axis > 0.5) were counted. A mean of 124±11 fibers was counted per muscle biopsy.

RNA extraction and reverse transcription

Total RNA was extracted from the human *vastus lateralis* muscle samples using the RNeasy minikit (Qiagen AG, Basel, Switzerland) and quantified with RiboGreen (Molecular probes, Invitrogen AG, Basel, Switzerland) as described (16). Formaldehyde-Agarose gel analysis demonstrated the integrity of all RNA samples. RNA aliquots (300 ng) of these reactions were reverse transcribed in 20 μ l, with 4 units of Reverse Transcriptase using random hexamer primers (1 μ M) and 0.5 mM dNTPs, following the manufacturer's instructions (Omniscript Reverse Transcriptase kit, Qiagen, Basel, Switzerland).

Realtime polymerase chain reaction (PCR) amplification reactions were carried out in triplicates on 30 μ l aliquots in a 96-well plate on a ABI Prism 5700 Sequence Detection System with cDNA signal detection via SYBRGreen (PE Biosystem, Rotkreuz, Switzerland). Primers were designed with the Primer Express software (PE Biosystems, Rotkreuz, Switzerland). Sequences of the primers used are given in Table 1. For the level estimation of on single transcript, all samples from the 2 training series were assayed on the same 96-well plate. The amount of target mRNA relative to the reference (28S) was calculated using the CT (comparative threshold cycle for target amplification) method as already described (16). The individual PCR efficiency was calculated from the mean slope of monitored SYBRGreen intensity within the linear phase of cDNA amplification. Specificity of amplified cDNA was verified from the dissociation curve as determined on the ABI Prism 5700 and by checking the amplified fragment for correct size after separation of the PCR reaction on a 1% Agarose gel.

Statistical analysis

For each transcript and subject, 28S-related RNA levels were normalized to the corresponding pre-training mRNA value. Values are expressed as means \pm SEM. Differences between groups

before the training period were analyzed with one-way ANOVA. To test and compare the effects of training in hypoxia and normoxia, we used two-way repeated-measures ANOVA with factors “type of training” (i.e. for categories HYP, NOR) and “measured variables” (i.e. for all transcripts or functional parameters) for the repeated performance and transcript measures pre-and post-training. When significant modifications were found, Student-Neuman-Keuls post hoc test were performed to localize the effect. When a specific hypothesis could be formulated a one-sided test statistics was adopted. Pearson linear regression analysis was used to determine any potential linear relationship between variables. Statistical analyses were performed with SigmaStat 3.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL) and Statistica software package 6.1 (StatSoft (Europe) GmbH, 20253 Hamburg, GERMANY). The level of significance was fixed at $P < 0.05$.

Results

The anthropometric characteristics, treadmill performance and training conditions of the subjects are shown in Table 2 and 3. $\dot{V}O_{2\max}$ was significantly higher in the HYP group before training ($P<0.05$, table 3).

Total training

The total training schedule (i.e. field and laboratory training sessions) of the athletes was very comparable. During the 6-wk training, HYP and NOR groups performed respectively 33.0 ± 0.6 and 31.0 ± 2.0 training sessions, leading to no difference in total training time and total training distance (HYP: 2013 ± 114 min and 478 ± 27 km vs. NOR: 2085 ± 266 min and 496 ± 78 km). No differences appeared either in total time or in total distance run by the subjects in the respective intensity zones (see table 2 of Dufour et al. first article of the trilogy).

Normoxic performance

The effects of the experimental intervention in the studied population upon the results of the incremental exercise test to exhaustion in normoxia (IET_N) are shown in table 3. The HYP group enhanced significantly $\dot{V}O_{2\max N}$ as well as the speed at VT_{2N}, by +5% and +4% respectively ($P<0.05$). The NOR group did not demonstrated significant improvement in $\dot{V}O_{2\max}$, whereas athletes increased their speed at VT_{2N} by 4% ($P<0.05$). There was a significant interaction ($p=0.008$) between the training-induced increase in $\dot{V}O_{2\max N}$ and type of training (NOR and HYP). The all-out exercise tests were performed at the same absolute running velocity before and after training (table 3). While it was precisely realized at $v\dot{V}O_{2\max N}$ before training, this speed amounted to 96 and 97% of the post-training $v\dot{V}O_{2\max N}$

for the HYP and NOR group respectively. The time to exhaustion (Tlim) was significantly enhanced in the HYP group (+43%, $P < 0.05$) but was not changed in the NOR group. There was a significant interaction ($p < 0.001$) between the training-induced increase in Tlim and type of training. Table 3 reported that the maximal blood lactate concentration were unchanged after both training protocols.

Fiber type composition and mitochondrial enzymes. There were no significant alterations in fiber type percentage with either training protocol (table 4). As shown in table 4, mitochondrial enzymes citrate synthase (CS) and cytochrome oxidase (COX) activities were not altered after both training modalities.

Skeletal muscle mRNA expression analysis

Normalized values obtained for the mRNA level for each gene of interest as determined by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), before and after 6 weeks of training in NOR or hypoxic HYP conditions are given in figure 1. There was a significant interaction between the training-induced alterations in transcript levels and the type of training (NOR vs. HYP, $p = 0.017$). Additionally, a significant effect of transcript identity on training-induced transcript level changes was revealed ($p < 0.001$).

Oxygen sensing. The pre-exercise HIF-1 α mRNA level was selectively increased by 104% in the HYP group only.

Oxygen transport. The mRNA level of myoglobin (mb) showed a trend towards a higher level after both training modalities (+16% and +26% after NOR and HYP respectively, ($P = 0.05$)). The regulator of vascular growth, VEGF mRNA was not significantly increased after either training modality.

Metabolic phenotype. After training in HYP, the mRNA levels of GLUT-4 and glycolytic enzyme PFKm were both significantly increased by 32% ($P < 0.05$).

Transcript levels of regulators of mitochondrial biogenesis PGC-1 α (+60%), Tfam (+48%), as well as mitochondrial metabolism, CS (+28%), COX-1 (+74%) and COX-4 (+36%) were significantly increased in biopsies of HYP athletes.

Oxidative stress. PCR quantification revealed the level of MnSOD mRNA to be increased after training under hypoxic conditions (+44%, $P<0.01$) and CuZnSOD mRNA level showed a tendency for an increase ($p=0.054$).

pH regulation. The hypothesis of a training-induced increase in the muscular mRNA concentration of CA3 (+74%, $P<0.01$) and MCT-1 (+44%, $P<0.05$) was confirmed for the athletes who trained in hypoxia.

Contractile phenotype. There was no significant alteration of MHC-I and MHC-IIx mRNA levels after both training modalities.

Co-regulation of RNA level changes.

Intergene comparisons revealed several significant correlations of genes implicated in oxidative metabolism and its metabolites (i.e. mb vs. COX-4/COX-1, as well as mb vs. MnSOD/CuZnSOD, $p<0.0001$). Moreover, PFKm correlated with Mb ($r=0.76$), COX-4 ($r=0.86$), GLUT-4 ($r=0.7$), VEGF ($r=0.85$) and MnSOD ($r=0.76$), but only in post-exercise biopsies of athletes who trained in hypoxia ($P<0.05$, data not shown).

Correlations between endurance performance and mRNAs expression. GLUT-4, CA3 and MCT-1 mRNAs specifically and significantly correlated with Tlim when pre- and post-training biopsies of athletes who trained in hypoxia were pooled ($r=0.65$, $P<0.01$, $r=0.81$, $P<0.001$, $r=0.60$, $P<0.01$ respectively, figure 2). There was no correlation between mRNAs level and Tlim in pre- and post-training biopsies of athletes who trained in normoxia.

Discussion

Major findings

In order to enhance the comprehension of the endurance capacity improvement following a modified IHT program, we assessed the expression levels of a set of selected mRNAs in skeletal muscle of athletes. Measurement of the transcripts encoding enzymes involved in different metabolic, homeostatic and regulatory pathways suggests that, in addition to the mechanical and contractile training stimuli, the added hypoxic stress during exercise seems to play a major role in the muscle phenotypic adaptations. In this context, we showed increased mRNA levels of factors implicated in the regulation of mitochondrial biogenesis, of enzymes implicated in carbohydrate (CHO) and mitochondrial metabolism, oxidative stress defense and pH regulation. As well, significant correlations were noted between muscular mRNAs levels of MCT-1, CA3, GLUT-4 and the endurance capacities (T_{lim}) of athletes only in the group who trained in hypoxia. Consequently, the addition of a hypoxic stress during 2 sessions per week realized at second ventilatory threshold during 6 weeks induced specific gene expressional adaptations which may contribute to the biological processes which allow an increase in endurance performance.

O₂ sensing and gene regulation

Investigations in trained human skeletal muscle on oxygen availability in combination with variations in FIO_2 during maximal exercise have revealed that there is a very low cytoplasmic PO_2 at $\dot{V}O_{2\max}$ and that variations in systemic O_2 supply alter intracellular PO_2 (48). Consequently, intracellular oxygenation and then maximal muscular oxidative utilization are reduced whereas muscle lactate efflux is accelerated in hypoxia. These changes are consistent with the concept that O_2 supply limits $\dot{V}O_{2\max}$ in trained human skeletal muscle (48, 49). This also suggests that intracellular PO_2 is an important modulator of muscle metabolism and

ultimately muscle fatigue (50).

HIF-1 α protein is a major hypoxia sensor and transcriptional regulator of oxygen dependent gene expression (52). Consequently, a HIF-1 α -deficiency in HIF-1 α -heterozygous mice blunts the hypoxia-induced expression of transcripts for glycolytic and respiratory factors in skeletal muscle (10). HIF-1 α protein is stabilized in hypoxia thereby causing association with its partner, HIF-1 β , and triggering the transcription of multiple glycolytic and angiogenic genes (52). Under normoxic conditions, it has been demonstrated that HIF-1 α protein is degraded within several minutes by the ubiquitin-proteasome pathway (35). The observed increase of HIF-1 α mRNA in the HYP group after training links to the previous observations of its enhanced levels after hypoxic training (58). This HIF-1 α mRNA elevation possibly reflects an augmented potential for the translation of HIF-1 α and downstream activation of HIF-1-dependent pathways. This supports the notion that the HIF-1 system is involved in the regulation of muscle adaptations specifically when some training sessions are realized in hypoxia (58).

Metabolic phenotype

It has been demonstrated that mitochondrial adaptation to endurance training in humans is associated with activation of PGC-1 α as well as its downstream transcription factors (NRF-1, mtTFA), which induce coordinated expression of mitochondrial transcripts (20).

In our study, even if we found that the mRNAs level encoding the co-activator PGC-1 α and the oxidative enzymes COX-1, COX-4 and CS increased after training in hypoxia, CS and COX enzymes activities did not show any alterations after both training modalities in skeletal muscle of athletes (table 4). It can therefore be assumed that after several years of endurance training, athletes reached the limit of their adaptive potential concerning quantitative aspects of the muscular oxidative capacities (47). We and others observed, in untrained subjects, a higher mitochondrial volume density as well as an up-regulation of the nuclear- and

mitochondrial-encoded COX subunit mRNAs after training in hypoxia (54, 58). On the other hand, in our population of athletes, we showed a lack of increase of muscular oxidative capacities as well as a lack of correlations between index of endurance capacity and the oxidative enzymes activities. This suggested that the endurance time at $v\dot{V}O_{2\max}$ (T_{lim}) was not limited by the muscular oxidative capacities in endurance athletes. Hence, the increase of exercise capacities (i.e. $\dot{V}O_{2\max}$ and T_{lim}) after training in hypoxia could not be explained by a simply quantitative adaptation of the muscular oxidative capacities. Rather, the increases of mRNA level of respiratory factors therefore possibly indicates increased mitochondrial turnover in the hypoxia-trained group.

Glucose transport has been shown to be the rate-limiting step in muscle glucose uptake under most conditions (36), and the importance of contraction-induced glucose transport for the maintenance of muscle ATP has been recognized for many years. The capacity of contraction-induced glucose uptake as well as the amount of glucose transporters (GLUT-4) are higher in skeletal muscle of athletes than in untrained age-matched control subjects (1, 15, 19, 30). Correspondingly, physical exercise training has consistently been shown to increase GLUT-4 content (11, 13, 53). Acute hypoxia exposure is known to increase the dependence on blood glucose (9), and to induce glucose uptake by the same mechanism as contractile activity, in part via an AMP Kinase pathway. Our data extend these results showing that GLUT-4 mRNA level was specifically increased after the 6-wk modified IHT regime. Moreover, it was significantly correlated with endurance capacities of athletes who trained in hypoxia. This suggests that hypoxia not only plays a functional role in glucose uptake, but could also lead to enhance GLUT-4 gene expression in response to hypoxia stimuli. This alteration may represent a specific hypoxia pathway (4), allowing a longer lasting increase in glucose uptake in muscle which could participate in improving the endurance capacity of athletes.

Oxidative stress defence

Regular exercise training has been shown to increase endogenous production of antioxidants and to provide subsequent protections against further exercise-induced oxidative damage (32, 46). We showed in our study that mRNA level of MnSOD was significantly higher after some training sessions in hypoxia when CuZnSOD demonstrated a tendency to be increased. Because hypoxia seems to induce an additional increase of ROS generation (14), we hypothesize that the increased of the mRNA level is a transcriptional adaptation allowing to increase cellular antioxidant capacity and then to reduce possible oxidative injury.

This increase of the mitochondrial superoxide dismutase isoform, i.e. MnSOD, is in line with a previous work in animals demonstrating that MnSOD is primarily responsible for the increased superoxide dismutase activity after a training program in normoxia (26). Our data support that increased MnSOD and CuZnSOD transcript levels are an adaptive response to reduce the presumably higher level of muscular ROS during exercise in hypoxia. Alternatively, it may represent an adaptive response of turnover related to replenishment of this antioxidant enzyme during its enhanced use in hypoxia.

pH regulating system

pH-regulating transport systems are of major importance for endurance capacities of athletes. Effective pH regulation in muscle depends on the co-transport of lactate and H^+ via the monocarboxylate transporters (33), as well as the carbonic anhydrases (CA) which influence the rate of H^+ and HCO_3^- transport (22). Recent data implicated that permanent hypoxia modifies skeletal muscle acid–base control via increases in the capacity for lactate, HCO_3^- and H^+ fluxes from muscle to blood (34). In this regard, we found that modified hypoxic training induced increase in the muscular mRNA concentration of CA3 (+74%) and MCT-1 (+44%). This is in line with the enhanced buffering capacity in well-trained cross-country skiers after 2-weeks of living and training at 2100-2,700 m above sea level (43).

The importance of carbonic anhydrase during exercise was previously demonstrated in experiments showing that the inhibition of CA enzyme with Acetazolamide is associated with increased perception of leg fatigue during maximal exercise realized in hypoxia, which may be due to the effect of acidosis within muscle cells (21, 38). We can suggest that the increase expression of CA3 could accelerate the interstitial $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ buffer system so that H^+ ions can be rapidly delivered or buffered in the interstitial fluid (22, 60).

Because all subjects trained at VT_2 , we can speculate that the net lactate efflux was identical during exercise sessions in both groups (56). On the other hand, a strong negative linear relationship between intracellular pH and muscle lactate efflux has previously been documented as well as a reduced intracellular pH in hypoxia compared to normoxia for a given muscle lactate efflux (50). Based on these observations, our present data suggest that when training was realized in hypoxia at the same relative intensity than normoxia, the increase of the pre-exercise level of CA3 and MCT-1 mRNAs could represent a transcriptional adaptation in response to the reduced intracellular pH. The linear relation between the endurance capacity (T_{lim}) and the muscular CA3, MCT-1 and GLUT-4 mRNA levels in hypoxia-trained athletes in our study, relates to the significant correlation between hypoxia markers and glycolytic enzyme mRNAs after low-resistance/high-repetition strength training in hypoxia (18). This suggests that fine transcriptional tuning of enzymes implicated in pH regulation is part of the molecular program underlying improved endurance performance after training in hypoxia (34, 43). Indeed, lactate exchange and removal capacities have been shown to contribute to lengthening of T_{lim} (8, 41, 42). Then, the increase in MCT-1 mRNA suggests a transcriptional mechanism allowing to improve lactate exchange and removal, which could lead to slow down the progressive lowering of muscle pH at a given absolute running velocity, thereby allowing the athletes to run longer before fatigue occurs. In good agreement with this hypothesis is the fact that training did not change the maximal lactate values recorded at exhaustion during the all-out test, suggesting a lower rate

of blood lactate accumulation after this modified IHT program.

Conclusion

The current investigation reveals that addition of intermittent, high-intensity hypoxic sessions to the normal training schedule of endurance athletes elicits a correlated increase in the transcripts that encode for factors implicated in myocellular homeostasis. Thus the, increased mRNA expression of factors involved in glucose uptake, oxidative stress defence and pH regulation are seen to reflect the potential for improved metabolization of carbohydrates with a maintained redox balance during exercise at the second ventilatory threshold. The observed increase in endurance performance of athletes after training with a living low-training high paradigm needs further studies to understand the coordinated metabolic regulations that allow for the functional improvements observed.

Acknowledgements

We wish to thank D. Fortin from the INSERM U-446 for helpful technical assistance.

Grants

This project was supported by grants from the International Olympic Committee and the Ministère Français de la Jeunesse et des Sports. The scientific and sport coordination were respectively assumed by Pr Jean-Paul Richalet and M. Laurent Schmitt to which we express our sincere gratitude.

References

1. **Andersen PH, Lund S, Schmitz O, Junker S, Kahn BB and Pedersen O.** Increased insulin-stimulated glucose uptake in athletes: the importance of GLUT4 mRNA, GLUT4 protein and fibre type composition of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 149: 393-404, 1993.
2. **Baecke JA, Burema J and Deurenberg P.** Body fatness, relative weight and frame size in young adults. *Br J Nutr* 48: 1-6, 1982.
3. **Beaver WL, Wasserman K and Whipp BJ.** A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 60: 2020-2027, 1986.
4. **Behrooz A and Ismail-Beigi F.** Stimulation of Glucose Transport by Hypoxia: Signals and Mechanisms. *News Physiol Sci* 14: 105-110, 1999.
5. **Berchtold MW, Brinkmeier H and Muntener M.** Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiol Rev* 80: 1215-1265, 2000.
6. **Billeter R, Weber H, Lutz H, Howald H, Eppenberger HM and Jenny E.** Myosin types in human skeletal muscle fibers. *Histochemistry* 65: 249-259, 1980.
7. **Booth FW, Tseng BS, Fluck M and Carson JA.** Molecular and cellular adaptation of muscle in response to physical training. *Acta Physiol Scand* 162: 343-350, 1998.
8. **Bret C, Messonnier L, Nouck Nouck JM, Freund H, Dufour AB and Lacour JR.** Differences in lactate exchange and removal abilities in athletes specialised in different track running events (100 to 1500 m). *Int J Sports Med* 24: 108-113, 2003.
9. **Brooks GA, Butterfield GE, Wolfe RR, Groves BM, Mazzeo RS, Sutton JR, Wolfel EE and Reeves JT.** Increased dependence on blood glucose after acclimatization to 4,300 m. *J Appl Physiol* 70: 919-927, 1991.
10. **Däpp C, Gassmann M, Hoppeler H and Flück M.** Hypoxia-induced gene activity in disused oxidative muscle. *Advances in Experimental Biology and Medicine* in press, 2005.
11. **Dela F, Handberg A, Mikines KJ, Vinten J and Galbo H.** GLUT 4 and insulin receptor binding and kinase activity in trained human muscle. *J Physiol* 469: 615-624, 1993.
12. **Desplanches D, Hoppeler H, Linossier MT, Denis C, Claassen H, Dormois D, Lacour JR and Geysant A.** Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on human muscle ultrastructure. *Pflugers Arch* 425: 263-267, 1993.
13. **Dohm GL.** Invited review: Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise. *J Appl Physiol* 93: 782-787, 2002.
14. **Duranteau J, Chandel NS, Kulisz A, Shao Z and Schumacker PT.** Intracellular signaling by reactive oxygen species during hypoxia in cardiomyocytes. *J Biol Chem* 273: 11619-11624, 1998.
15. **Ebeling P, Bourey R, Koranyi L, Tuominen JA, Groop LC, Henriksson J, Mueckler M, Sovijarvi A and Koivisto VA.** Mechanism of enhanced insulin sensitivity in athletes. Increased blood flow, muscle glucose transport protein (GLUT-4) concentration, and glycogen synthase activity. *J Clin Invest* 92: 1623-1631, 1993.
16. **Fluck M, Chiquet M, Schmutz S, Mayet-Sornay MH and Desplanches D.** Reloading of atrophied rat soleus muscle induces tenascin-C expression around damaged muscle fibers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284: R792-801, 2003.
17. **Fluck M and Hoppeler H.** Molecular basis of skeletal muscle plasticity--from gene to form and function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 146: 159-216, 2003.
18. **Friedmann B, Kinscherf R, Borisch S, Richter G, Bartsch P and Billeter R.** Effects of low-resistance/high-repetition strength training in hypoxia on muscle structure and gene expression. *Pflugers Arch* 446: 742-751, 2003.

19. **Fujimoto T, Kemppainen J, Kalliokoski KK, Nuutila P, Ito M and Knuuti J.** Skeletal muscle glucose uptake response to exercise in trained and untrained men. *Med Sci Sports Exerc* 35: 777-783, 2003.
20. **Garnier A, Fortin D, Zoll J, N'Guessan B, Mettauer B, Lampert E, Veksler V and Ventura-Clapier R.** Coordinated changes in mitochondrial function and biogenesis in healthy and diseased human skeletal muscle. *Faseb J* 19: 43-52, 2005.
21. **Garske LA, Brown MG and Morrison SC.** Acetazolamide reduces exercise capacity and increases leg fatigue under hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 94: 991-996, 2003.
22. **Geers C and Gros G.** Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle. *Physiol Rev* 80: 681-715, 2000.
23. **Geiser J, Vogt M, Billeter R, Zuleger C, Belforti F and Hoppeler H.** Training high--living low: changes of aerobic performance and muscle structure with training at simulated altitude. *Int J Sports Med* 22: 579-585, 2001.
24. **Gelfi C, De Palma S, Ripamonti M, Eberini I, Wait R, Bajracharya A, Marconi C, Schneider A, Hoppeler H and Cerretelli P.** New aspects of altitude adaptation in Tibetans: a proteomic approach. *Faseb J* 18: 612-614, 2004.
25. **Green HJ, Sutton JR, Wolfel EE, Reeves JT, Butterfield GE and Brooks GA.** Altitude acclimatization and energy metabolic adaptations in skeletal muscle during exercise. *J Appl Physiol* 73: 2701-2708, 1992.
26. **Higuchi M, Cartier LJ, Chen M and Holloszy JO.** Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. *J Gerontol* 40: 281-286, 1985.
27. **Hoppeler H and Fluck M.** Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. *Med Sci Sports Exerc* 35: 95-104, 2003.
28. **Hoppeler H and Vogt M.** Muscle tissue adaptations to hypoxia. *J Exp Biol* 204: 3133-3139, 2001.
29. **Hoppeler H, Vogt M, Weibel ER and Fluck M.** Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. *Exp Physiol* 88: 109-119, 2003.
30. **Houmard JA, Egan PC, Neuffer PD, Friedman JE, Wheeler WS, Israel RG and Dohm GL.** Elevated skeletal muscle glucose transporter levels in exercise-trained middle-aged men. *Am J Physiol* 261: E437-443, 1991.
31. **Hultman E and Bergstrom J.** Muscle glycogen synthesis in relation to diet studied in normal subjects. *Acta Med Scand* 182: 109-117, 1967.
32. **Ji LL.** Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 222: 283-292, 1999.
33. **Juel C.** Lactate/proton co-transport in skeletal muscle: regulation and importance for pH homeostasis. *Acta Physiol Scand* 156: 369-374, 1996.
34. **Juel C, Lundby C, Sander M, Calbet JA and Hall G.** Human skeletal muscle and erythrocyte proteins involved in acid-base homeostasis: adaptations to chronic hypoxia. *J Physiol* 548: 639-648, 2003.
35. **Kallio PJ, Wilson WJ, O'Brien S, Makino Y and Poellinger L.** Regulation of the hypoxia-inducible transcription factor 1alpha by the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem* 274: 6519-6525, 1999.
36. **Kern M, Wells JA, Stephens JM, Elton CW, Friedman JE, Tapscott EB, Pekala PH and Dohm GL.** Insulin responsiveness in skeletal muscle is determined by glucose transporter (Glut4) protein level. *Biochem J* 270: 397-400, 1990.
37. **Levine BD and Stray-Gundersen J.** The effects of altitude training are mediated primarily by acclimatization, rather than by hypoxic exercise. *Adv Exp Med Biol* 502: 75-88, 2001.
38. **McLellan T, Jacobs I and Lewis W.** Acute altitude exposure and altered acid-base states. II. Effects on exercise performance and muscle and blood lactate. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57: 445-451, 1988.

39. **Meeuwssen T, Hendriksen IJ and Holeywijn M.** Training-induced increases in sea-level performance are enhanced by acute intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol* 84: 283-290, 2001.
40. **Melissa L, MacDougall JD, Tarnopolsky MA, Cipriano N and Green HJ.** Skeletal muscle adaptations to training under normobaric hypoxic versus normoxic conditions. *Med Sci Sports Exerc* 29: 238-243, 1997.
41. **Messonnier L, Freund H, Bourdin M, Belli A and Lacour JR.** Lactate exchange and removal abilities in rowing performance. *Med Sci Sports Exerc* 29: 396-401, 1997.
42. **Messonnier L, Freund H, Denis C, Dormois D, Dufour AB and Lacour JR.** Time to exhaustion at VO(2)max is related to the lactate exchange and removal abilities. *Int J Sports Med* 23: 433-438, 2002.
43. **Mizuno M, Juel C, Bro-Rasmussen T, Mygind E, Schibye B, Rasmussen B and Saltin B.** Limb skeletal muscle adaptation in athletes after training at altitude. *J Appl Physiol* 68: 496-502, 1990.
44. **Musaro A, McCullagh KJ, Naya FJ, Olson EN and Rosenthal N.** IGF-1 induces skeletal myocyte hypertrophy through calcineurin in association with GATA-2 and NF-ATc1. *Nature* 400: 581-585, 1999.
45. **Pilegaard H, Ordway GA, Saltin B and Neufer PD.** Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: E806-814, 2000.
46. **Powers SK, Ji LL and Leeuwenburgh C.** Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 31: 987-997, 1999.
47. **Puntschart A, Claassen H, Jostarndt K, Hoppeler H and Billeter R.** mRNAs of enzymes involved in energy metabolism and mtDNA are increased in endurance-trained athletes. *Am J Physiol* 269: C619-625, 1995.
48. **Richardson RS, Leigh JS, Wagner PD and Noyszewski EA.** Cellular PO₂ as a determinant of maximal mitochondrial O(2) consumption in trained human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 87: 325-331, 1999.
49. **Richardson RS, Noyszewski EA, Kendrick KF, Leigh JS and Wagner PD.** Myoglobin O₂ desaturation during exercise. Evidence of limited O₂ transport. *J Clin Invest* 96: 1916-1926, 1995.
50. **Richardson RS, Noyszewski EA, Leigh JS and Wagner PD.** Lactate efflux from exercising human skeletal muscle: role of intracellular PO₂. *J Appl Physiol* 85: 627-634, 1998.
51. **Schmitt B, Fluck M, Decombaz J, Kreis R, Boesch C, Wittwer M, Graber F, Vogt M, Howald H and Hoppeler H.** Transcriptional adaptations of lipid metabolism in tibialis anterior muscle of endurance-trained athletes. *Physiol Genomics* 15: 148-157, 2003.
52. **Semenza GL.** HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* 88: 1474-1480, 2000.
53. **Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogawa K, Higuchi M, Ezaki O and Tabata I.** Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 90: 2019-2024, 2001.
54. **Terrados N, Jansson E, Sylven C and Kaijser L.** Is hypoxia a stimulus for synthesis of oxidative enzymes and myoglobin? *J Appl Physiol* 68: 2369-2372, 1990.
55. **Terrados N, Melichna J, Sylven C, Jansson E and Kaijser L.** Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57: 203-209, 1988.
56. **Van Hall G, Jensen-Urstad M, Rosdahl H, Holmberg HC, Saltin B and Calbet JA.** Leg and arm lactate and substrate kinetics during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E193-205, 2003.

57. **Ventura N, Hoppeler H, Seiler R, Binggeli A, Mullis P and Vogt M.** The response of trained athletes to six weeks of endurance training in hypoxia or normoxia. *Int J Sports Med* 24: 166-172, 2003.
58. **Vogt M, Puntchart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R and Hoppeler H.** Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 91: 173-182, 2001.
59. **Wasserman K, Stringer WW, Casaburi R, Koike A and Cooper CB.** Determination of the anaerobic threshold by gas exchange: biochemical considerations, methodology and physiological effects. *Z Kardiol* 83 Suppl 3: 1-12., 1994.
60. **Wetzel P, Hasse A, Papadopoulos S, Voipio J, Kaila K and Gros G.** Extracellular carbonic anhydrase activity facilitates lactic acid transport in rat skeletal muscle fibres. *J Physiol* 531: 743-756, 2001.

CAPTIONS TO FIGURES

Fig. 1: Relative mRNA concentrations for gene products involved in muscular phenotype definition before and after 6 weeks of training in normoxia (A) and hypoxia (B). Open bars represent pre training values and solid bars are post training values of 28S-related mRNA concentrations in *vastus lateralis* muscle of endurance athletes. Post-training values were related to the pre-values, which are set to 1. Data are means \pm SEM. *p<0.05 vs. before training. † p<0.10 vs. before training.

Fig. 2: Correlations analysis of mRNA levels with time to exhaustion at $\dot{V}O_{2\max}$ (Tlim). Comparison between the running time to exhaustion (Tlim) and: A) Glucose Transporter 4 (GLUT-4); B) Carbonic Anhydrase 3 (CA3); C) Monocarboxylate transporter 1 (MCT-1); in *vastus lateralis* muscle of athletes. Number in brackets indicates the correlation coefficient (r) and the statistical significance level P of linear regression analysis

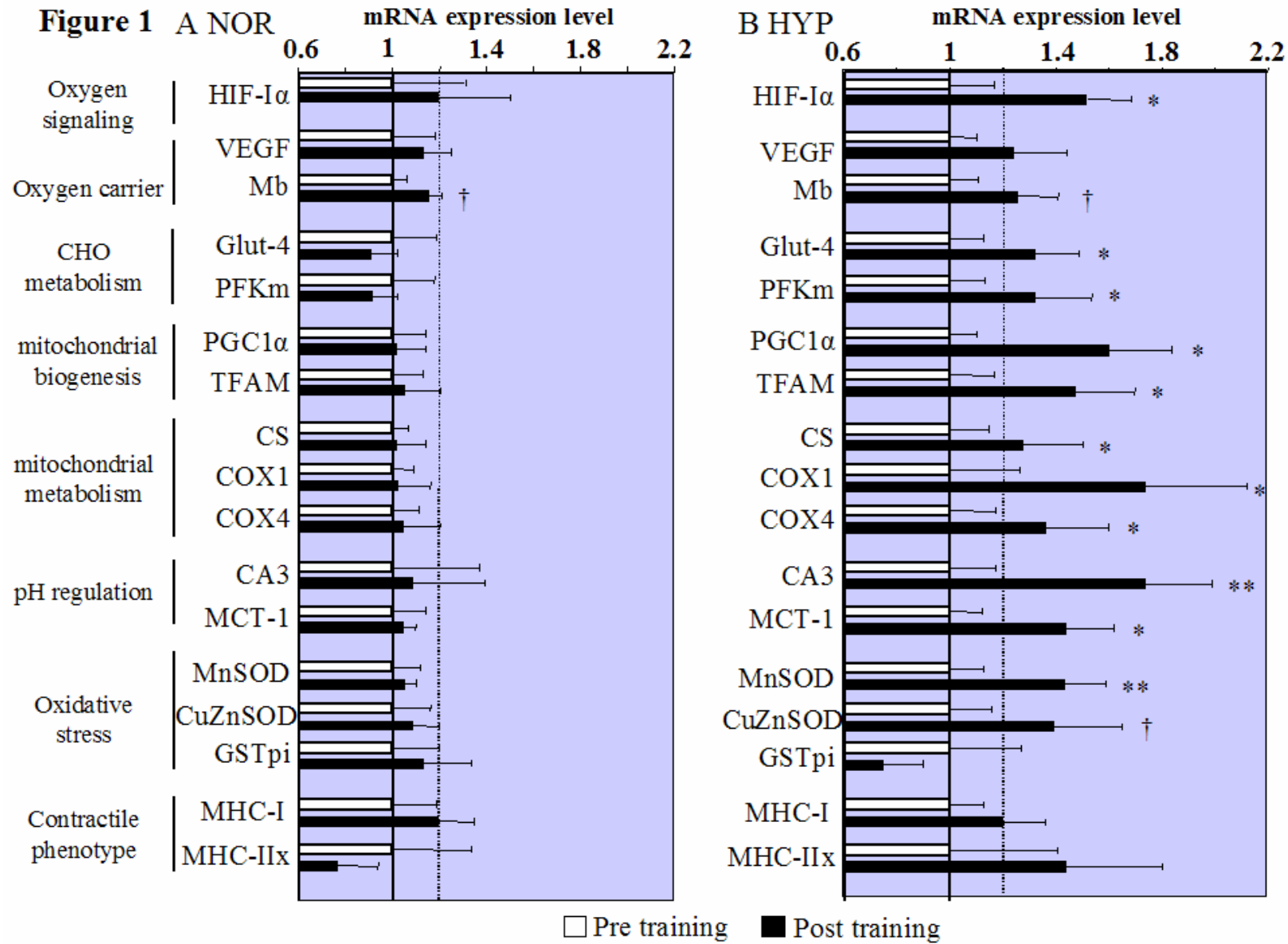


Figure 2

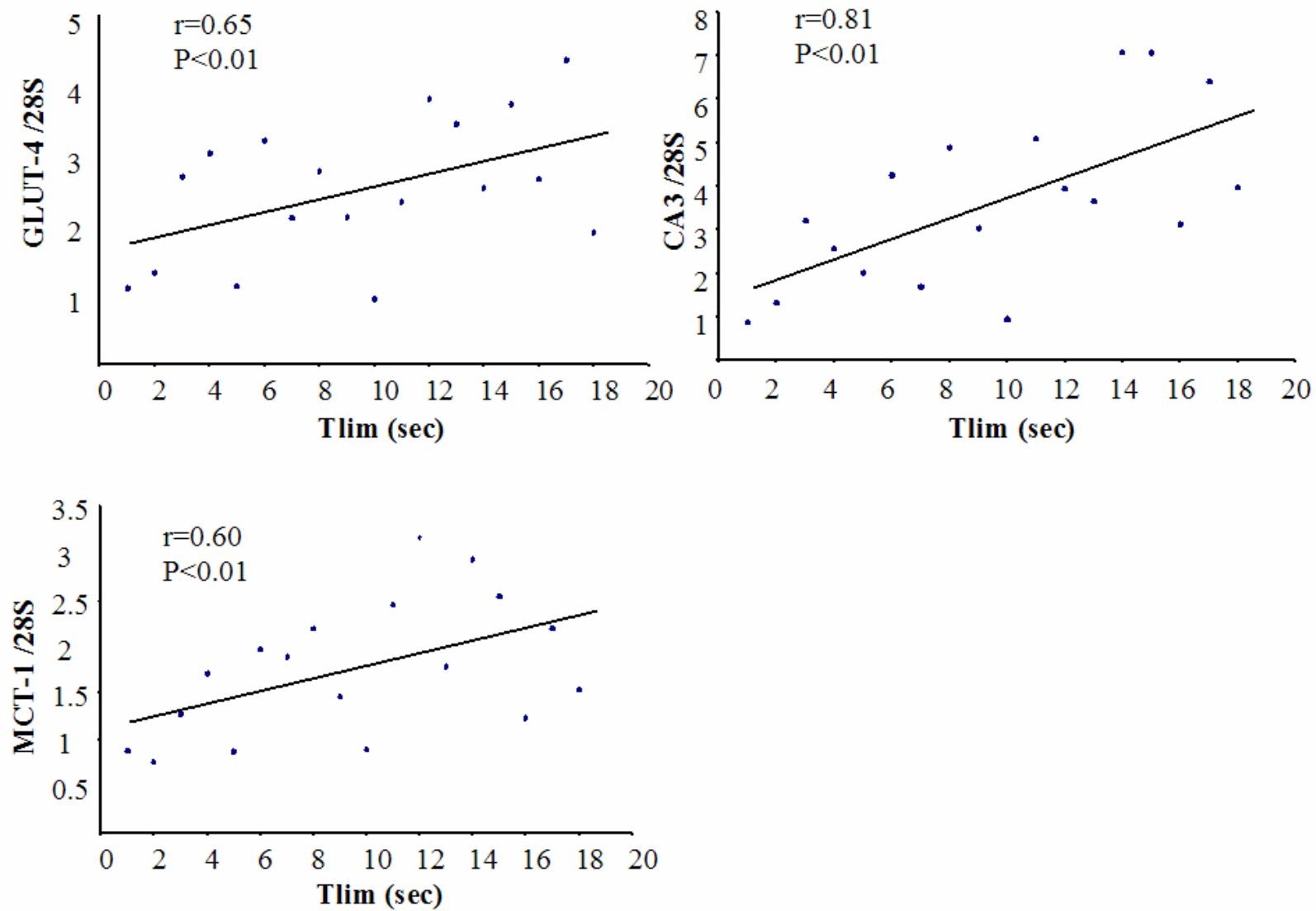


Table 1: PCR primer sequences for the measured gene transcripts

Gene	Gene name	Genebank	Forward primer	Reverse primer
28S	ribosomal 28S RNA	M11167	5' ATATCCGCAGCAGGTCTCCAA 3'	5'GAGCCAATCCTTATCCCGAAG 3'
CA3	carbonic anhydrase 3	BC004897	5' TTGACCCATCCTGCCTGTTTC 3'	5' GGTGAATGAGCCCTGGTAGGT 3'
COX-1	cytochrome oxidase subunit 1	M10546	5' CTATACCTATTATTCGGCGCATGA 3'	5' CAGCTCGGCTCGAATAAGGA 3'
COX-4	cytochrome oxidase subunit 4	X54802	5' GCCATGTTCTTCATCGGTTTC 3'	5'GGCCGTACACATAGTGCTTCTG 3'
CS	citrate synthase	BTOO7414	5' CTCAGGACGGGTTGTTCCA 3'	5' CAGGTATATCGCGGATCAGTCTTC 3'
Cu/Zn SOD	cytoplasmic Cu-Zn superoxide dismutase	X02317	5' CAGGGCATCATCAATTTTCGA 3'	5' TGCTTCCCCACACCTTCAC 3'
GLUT-4	glucose transporter 4	M20747	5' AGCCCCGCTACCTCTACA 3'	5' GTCAGGCGCTTCAGACTCTTTC 3'
GST-Pi	glutathione S-transferase P	X15480	5' CAGGAGGGCTCACTCAAAGC 3'	5' TGAGGTCTCCGTCCTGGAAC 3'
HIF-1 α	hypoxia-inducible factor 1, alpha subunit	U22431	5'TAGTGAACAGAATGGAATGGAGCAA3'	5'TTTTTGGACACTGGTGGCTC3'
Mb	myoglobin	BC018001	5' GCATGCCACCAAGCACAAG 3'	5' TGATGCATTCCGAGATGAACTC 3'
MCT-1	monocarboxylate transporter 1	L31801	5' CCAAGGCAGGGAAAGATAAGTCT 3'	5' ATCTTTTTTCACACCAGATTTTCCA 3'
MHC-I	myosin heavy chain type I	M21665	5' AAGGTCAAGGCCTACAAGC 3'	5' CGGAACTTGGACAGGTTGGT 3'
MHC-IIx	myosin heavy chain type IIx	AF111785	5' GGAGGAACAATCCAACGTCAA 3'	5' TGACCTGGGACTCAGCAATG 3'
MnSOD	manganese superoxide dismutase	M36693	5' CACGCGGCCTACGTGAA 3'	5' GCCAACGCCTCCTGGTACT 3'
PFKm	6-phosphofructokinase, muscle type	J05533	5' TTCGCTCCACTGTGAGGATTG 3'	5' CCTCGAAACCATCATGGACAA 3'
PGC-1 α	peroxisome proliferator activated receptor	AF159714	5' GTAAATCTGCGGGATGATGGA 3'	5' GCAGCAAAGCATCACAGGTAT 3'
Tfam	mitochondrial transcription factor A	NM003201	5' CCAAAAAGACCTCGTTCAGCTTA 3'	5' TGCGGTGAATCACCCCTTAGC 3'
VEGF	vascular endothelial growth factor	M32977	5'CATGGCAGAAGGAGGAGGGCAGAATCA3'	5'ATCTTCAAGCCATCCTGTGTGCCCTG3'

Table 2. Anthropometric data

	Group	
	NOR	HYP
Number of subjects	6	9
Body weight, kg	75.7 ± 2.7	70.6 ± 2.2
Height, cm	180 ± 2	180 ± 1
Age, yr	31.3 ± 3.1	30.3 ± 2.1
% Body Fat	13.4 ± 2.5	11.8 ± 0.8

HYP and NOR: groups that included only two training sessions at the velocity corresponding to the second ventilatory threshold in their usual weekly training schedule, and performed under hypoxic or normoxic condition respectively. % Body Fat: percentage of body fat determined according to ref (2). Values are presented as means ± SEM.

Table 3: Treadmill running performance indices measured in normoxia before and after the 6-wk training period

<i>Incremental test</i>	NOR		HYP	
	Pre	Post	Pre	Post
vVT_{2N} (km·h ⁻¹)	16.8±0.7	17.5±0.7*	18.1±0.1	18.9±0.1**
$\dot{V}O_{2\max N}$ (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)	59.4±1.0	60.9±1.4	64.3±1.2 [§]	67.3±1.3*
<i>Time to exhaustion</i>				
Tlim (sec)	500±59	558±55	540±34	764±55**
Lactate max (mM)	7.1±0.7	7.4±1.0	6.9±0.8	6.5±0.8

NOR: normoxia (F_{IO₂}=20.9%); HYP: hypoxia (F_{IO₂}=14.5%); Pre and Post: before and after the 6-wk training period. vVT_{2N} : Running speed at second ventilatory threshold in the normoxic incremental test; $\dot{V}O_{2\max N}$: maximal oxygen uptake determined in the normoxic incremental test; Tlim: time to exhaustion at the end of the all-out exercise test; Lactate max: maximal blood lactate measured at the end to the all-out test.

Values are presented as means ± SEM. Significant difference to pre values, *P<0.05, **P<0.01; Significant difference to NOR, [§] P<0.05.

Table 4: Fibre type distribution and enzymes activities

	NOR		HYP	
	Pre	Post	Pre	Post
CS (IU.g ww ⁻¹)	19.2±2.3	16.0±1.8	19.4±2.0	19.5±2.2
COX (IU.g ww ⁻¹)	5.5±1.3	3.6±0.5	6.0±1.5	5.5±1.1
% type I fibers	59.0±7.7	66.1±6.2	70.6±6.9	70.1±6.2
% type IIA fibers	37.6±6.9	32.5±5.9	28.7±7.0	29.9±6.2
% type IIB(X) fibers	3.4±1.2	1.4±0.7	0.7±0.4	0.0±0.0

Values are means ± SEM. NOR: normoxia (F_IO₂=20.9%); HYP: hypoxia (F_IO₂=14.5%); Pre and Post: before and after the 6-wk training period; CS: citrate synthase activity; COX: cytochrome oxidase

Principaux résultats

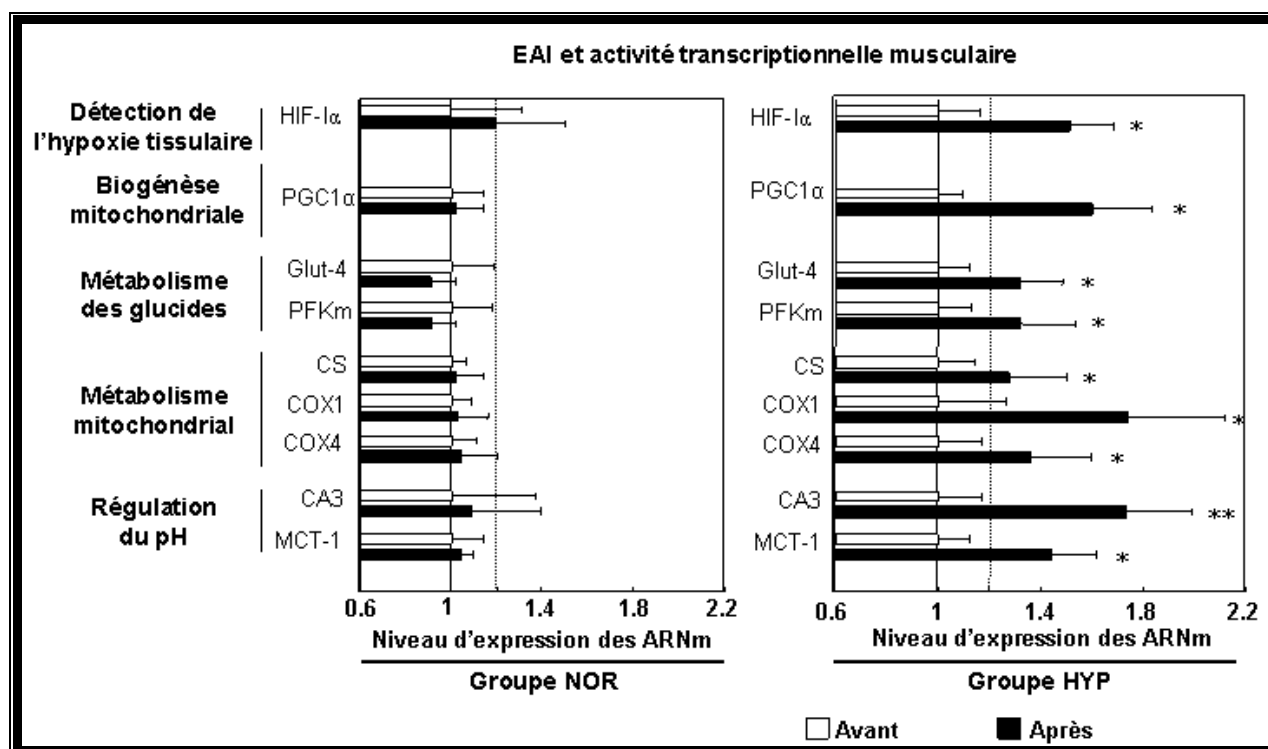


Figure 13: Principaux effets de l'EAI sur l'activité transcriptionnelle au niveau musculaire. Seul le groupe d'athlètes entraînés en altitude intermittente démontre une adaptation spécifique de l'activité transcriptionnelle. n=9 pour le groupe HYP et n=6 pour le groupe NOR. *: P<0,05 avant vs. après EAI.

Cette étude démontre que l'inclusion de 2 séances hebdomadaires d'entraînement en altitude dans le programme habituel d'athlètes en endurance permet d'augmenter significativement (104%) la transcription du gène codant pour la composante α du facteur de transcription inductible par l'hypoxie, HIF 1. HIF 1 α est considéré comme un facteur clé de la détection de l'hypoxie tissulaire (Semenza, 2000), indispensable à la mise en place des réponses adaptatives musculaires impliquées dans le métabolisme du glucose et les phosphorylations oxydatives (Däpp *et al.*, 2005).

La présente étude démontre également une élévation de la transcription de facteurs impliqués dans la régulation du pH intracellulaire, tels que les transporteurs de monocarboxylate 1 (MCT-1, 44%) et l'anhydrase carbonique 3 (CA3, 74%). Une augmentation de l'activation de la transcription de facteurs impliqués dans la régulation du phénotype métabolique musculaire est également apparue chez nos athlètes, et notamment du peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 α (PGC1 α) (60%), considéré comme jouant un rôle clé dans les adaptations mitochondriales à l'entraînement (Garnier *et al.*, 2005). Les ARNm codants pour les enzymes oxydatifs tels que la citrate synthase (28%) et la cytochrome oxydase (36%) sont également augmentés après EAI. Toutefois, leur interprétation doit rester prudente puisque l'activité de ces

enzymes n'est pas améliorée après EAI, suggérant que l'activation de leur transcription n'est pas traduite au niveau phénotypique. Dans ce contexte, les corrélations significatives observées entre le Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$ et le niveau des ARNm codant pour MCT-1, Glut 4 (transporteur transmembranaire de glucose) et CA3 qui apparaissent dans le groupe HYP uniquement demandent, à être confirmées avec les protéines correspondantes.

I.4. Adaptations physiologiques et amélioration de la performance aérobie: quels effets de l'altitude intermittente chez l'athlète?

Le Journal of Applied Physiology a récemment créé une rubrique appelée Point-Counterpoint où des équipes scientifiques sont invitées à prendre part à des débats lancés par des experts sur des thématiques qui font l'actualité en physiologie de l'exercice. Dans ce contexte, notre équipe a été sollicitée pour donner son avis à propos des mécanismes responsables de l'amélioration de la performance aérobie chez l'athlète après exposition à l'altitude intermittente (Levine *et al.*, 2005).

Le texte de notre contribution est accepté pour publication.

Intermittent hypoxia as a metabolic stressor: evidence for peripheral mediated improvements in endurance performance capacity. Accepté au Journal of Applied Physiology JAP-01159-2005.

Une partie des méthodes actuelles d'exposition passive à l'altitude, propose de vivre en altitude (>12-16 h/j) et de s'entraîner en conditions proches de la normoxie. Ces méthodes bénéficient de l'augmentation du nombre de globules rouges comme voie principale d'amélioration de la performance aérobie et ont démontré leur efficacité chez l'athlète (Levine & Stray-Gundersen, 1997; Stray-Gundersen & Levine, 1999; Stray-Gundersen *et al.*, 2001). Par contre, lorsque les durées d'exposition à l'altitude sont plus courtes (<8 h/j), d'autres adaptations à l'altitude intermittente interviennent pour contribuer à améliorer la performance, incluant un meilleur coût énergétique de l'activité (Gore *et al.*, 2001; Saunders *et al.*, 2004b). Aucune modification des capacités de transport sanguin de l'O₂ n'est alors observée. Lorsque l'altitude est associée à l'exercice de manière intermittente, notre équipe a montré qu'une amélioration de la capacité de performance aérobie pouvait apparaître chez des athlètes, là encore sans jouer sur le contenu sanguin en O₂. Au niveau systémique, une meilleure extraction périphérique de l'O₂ et un meilleur maintien de l'homéostasie cellulaire ont été observés, alors qu'au niveau mitochondrial, des adaptations qualitatives mais pas quantitatives de la fonction mitochondriale ont été décrites. Les mécanismes à l'origine de ces observations semblent en partie

[signallement bibliographique ajouté par : ULP – SCD – Service des thèses électroniques]

Stéphane Dufour, Elodie Ponsot, Jeffrey Zoll, Ruddy Richard.

Comments on point : counterpoint “positive effects of intermittent hypoxia (live high:train low) on exercise performance are/are not mediated primarily by augmented red cell volume.

The Journal of applied physiology 99, 2455 (2005)

Page 2455 :

La publication présentée ici dans la thèse est soumise à des droits détenus par un éditeur commercial.

Pour les utilisateurs ULP, il est possible de consulter cette publication sur le site de l'éditeur /

<http://jap.physiology.org/cgi/reprint/99/6/2453>

Il est également possible de consulter la thèse sous sa forme papier ou d'en faire une demande via le service de prêt entre bibliothèques (PEB), auprès du Service Commun de Documentation de l'ULP: peb.sciences@scd-ulp.u-strasbg.fr.

transcriptionnels, mettant en jeu HIF 1 α , surexprimé après EAI. L'intérêt d'associer l'altitude à l'exercice de manière intermittente est de limiter les durées d'exposition à l'altitude nécessaires pour bénéficier d'un effet positif sur la performance. Le maintien des stimuli mécaniques habituels de l'entraînement des athlètes semble jouer un rôle clé dans les améliorations de la capacité de performance observées après EAI.

CHAPITRE II : OPTIMISER LA GESTION DES INTENSITES D'EXERCICE EN ERGOCYCLE EXCENTRIQUE

II.1. Présentation

Récemment, l'ergocycle excentrique a été utilisé avec succès pour améliorer les capacités de force musculaire dans des programmes de réhabilitation menés avec des patients très déconditionnés, tels que les insuffisants cardiaques (coronariens) (Meyer *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2004), les insuffisants respiratoires (broncho-pneumopathie chronique obstructive) (Rooyackers *et al.*, 2003) ou encore les sujets âgés (~80 ans) (LaStayo *et al.*, 2003a). A la vue des résultats prometteurs obtenus, son utilisation dans le milieu sportif commence également à être envisagée dans le but d'améliorer la performance (Lindstedt *et al.*, 2001; LaStayo *et al.*, 2003b). Le principal intérêt de ce type d'exercice est de permettre l'atteinte de puissances mécaniques et de forces musculaires importantes tout en étant très peu coûteux au plan métabolique. En effet, le coût en oxygène du pédalage excentrique (EXC) est environ 5 fois plus faible que celui du pédalage concentrique classique (CON) (Perrey *et al.*, 2001). En parallèle de cette spécificité métabolique, le pédalage EXC s'accompagne également d'une réponse circulatoire spécifique, avec un \dot{Q} et une FC plus élevés pour une même valeur de $\dot{V}O_2$ à l'exercice (Knuttgen *et al.*, 1971; Thomson, 1971). Cette dernière observation revêt une importance déterminante pour la gestion des intensités d'exercice en ergocycle EXC et suggère que la FC doit être interprétée différemment en fonction du type de pédalage effectué (EXC vs. CON). Or, les programmes d'entraînement à base d'ergocycle excentrique menés jusqu'ici ont utilisé la FC comme marqueur de l'intensité métabolique de l'exercice ($\% \dot{V}O_{2\max}$) sans tenir compte de cette spécificité (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2004). On peut alors supposer que leurs groupes expérimentaux se sont entraînés à des intensités métaboliques d'exercice différentes, probablement plus faibles en EXC vs. CON. En

conséquence, les résultats obtenus sur la force musculaire et la capacité physique des sujets sont probablement sous-estimés.

Les épreuves d'effort progressives sont largement utilisées en pédalage CON pour établir la relation $FC/\dot{V}O_2$ et déterminer des zones cibles de FC comme marqueurs de l'intensité métabolique d'exercice (Esteve-Lanao *et al.*, 2005; Meyer *et al.*, 2005). Ce type d'approche en pédalage EXC s'est limité à des puissances mécaniques relativement faibles (<147 W) (Hesser *et al.*, 1977), très éloignées des puissances mécaniques utilisées lors des programmes de réhabilitation (>250 W). Pourtant, les ajustements cardio-respiratoires semblent s'effectuer plus rapidement en EXC vs. CON pour une même augmentation de puissance mécanique (Perrey *et al.*, 2001). La réalisation d'une épreuve d'effort progressive en EXC pourrait alors permettre d'établir la relation $FC/\dot{V}O_2$ en pédalage EXC, procurant des informations essentielles pour optimiser la gestion des intensités métaboliques d'exercice.

Cette étude a pour objectif de vérifier la faisabilité pratique d'une épreuve d'effort progressive en pédalage EXC, dans le but d'établir la relation $FC/\dot{V}O_2$ en pédalage EXC afin:

- 1) de déterminer les valeurs de FC correspondant à la même $\dot{V}O_2$ en pédalage EXC vs. pédalage CON.
- 2) d'évaluer la variabilité inter-individuelle de cette correspondance.

II.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article publié

Eccentric cycle exercise: training application of specific circulatory adjustments. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36(4) p1900-1906, 2004.

[signalement bibliographique ajouté par : ULP – SCD – Service des thèses électroniques]

Stéphane P. Dufour, Eliane Lampert, Stéphane Doutreleau, Evelyne Lonsdorfer-Wolf, Véronique L. Billat, François Piquard and Ruddy Richard.

Eccentric cycle exercise : training application of specific circulatory adjustments.

Medicine & Science in Sports & Exercise 36, 1900-1906 (2004)

Page 1900-1906 :

La publication présentée ici dans la thèse est soumise à des droits détenus par un éditeur commercial.

Il est possible de la consulter dans la thèse sous sa forme papier ou d'en faire une demande via le service de prêt entre bibliothèques (PEB), auprès du Service Commun de Documentation de l'ULP: peb.sciences@scd-ulp.u-strasbg.fr.

Principaux résultats

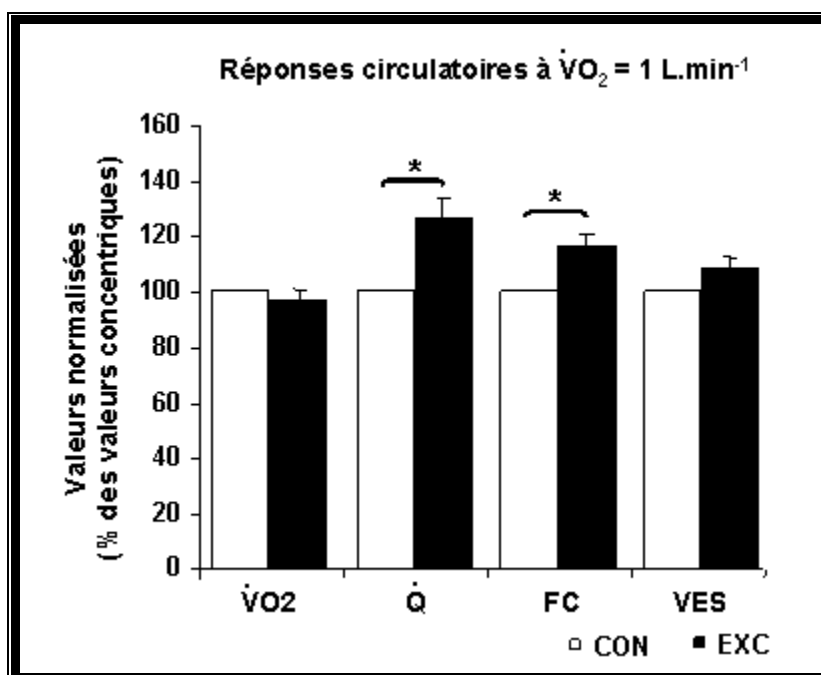


Figure 14: Réponses circulatoires au pédalage excentrique vs. concentrique à même $\dot{V}O_2$. Pour une consommation d' O_2 de $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, \dot{Q} et FC sont significativement supérieurs en excentrique. $n=8$ sujets en concentrique et en excentrique. *: $P<0,05$ EXC vs. CON.

Cette étude décrit les adaptations cardiorespiratoires observées lors d'une épreuve d'effort progressive en pédalage EXC, menée jusqu'à des niveaux de puissances mécaniques égaux à $p\dot{V}O_{2\text{max}}$ déterminée en mode CON. Après une période d'habituade de 2 semaines, comprenant 3-4 séances de 10 min de pédalage EXC, ce type d'épreuve ne génère pas de douleurs musculaires significatives et est bien tolérée par les sujets. Ainsi, en utilisant des incréments de 50 W toutes les 3 min, la relation $FC/\dot{V}O_2$ spécifique du pédalage EXC peut être établie de manière individuelle. Une pente plus raide est alors observée en mode EXC vs. CON. A partir d'une $\dot{V}O_2$ absolue d'environ $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, la FC est plus élevée (17%) en EXC vs. CON, alors que le VES n'est pas significativement augmenté. En conséquence, la FC apparaît comme le principal déterminant de l'élévation du \dot{Q} (27%) observée en EXC vs. CON à même $\dot{V}O_2$.

Un second résultat important de cette étude est que la différence de FC nécessaire pour obtenir la même $\dot{V}O_2$ en pédalage EXC vs. CON, est relativement variable d'un individu à l'autre ($CV=30\%$). L'observation d'une variabilité interindividuelle importante de la FC au pédalage EXC renforce la nécessité d'établir la relation $FC/\dot{V}O_2$ de manière individuelle. Dès lors, le protocole détaillé dans cette étude propose une méthodologie simple, permettant d'établir

avec précision les valeurs de FC correspondant à des $\dot{V}O_2$ cibles à utiliser à l'entraînement, quelque soit le mode d'action musculaire. Ces informations sont essentielles à l'utilisation de l'ergocycle EXC pour la conception d'un modèle expérimental spécifique de stimulation mécanique.

CHAPITRE III : CONTRIBUTION METABOLIQUE ET MECANIQUE AUX AJUSTEMENTS CIRCULATOIRES A L'EXERCICE

III.1. Présentation

Les hypothèses développées dans l'étude précédente suggèrent que les stimuli mécaniques pourraient exercer un contrôle important sur les ajustements circulatoires à l'exercice, lesquels seraient en partie responsables de la spécificité des ajustements circulatoires observée au pédalage EXC. Néanmoins, leur contribution n'a pour l'heure jamais été quantifiée. A l'exercice de pédalage CON classique, l'augmentation de la puissance mécanique génère simultanément une élévation des stimuli métaboliques et des stimuli mécaniques appliqués sur les muscles actifs (Coyle, 2000). Ces 2 types d'informations déterminent la réponse circulatoire à l'exercice (Rowell *et al.*, 1996), et l'estimation de leurs contributions respectives aux ajustements circulatoires à l'exercice implique la conception d'une situation expérimentale dans laquelle ces 2 types de signaux peuvent être manipulés séparément et précisément quantifiés.

Compte tenu de sa spécificité métabolique, le pédalage EXC permet de générer des puissances mécaniques 5 fois plus élevées que le pédalage CON classique réalisé à la même $\dot{V}O_2$. En conséquence, le pédalage EXC génère des stimuli mécaniques plus élevés pour des stimuli métaboliques équivalents et pourrait être mis à profit pour estimer le rôle respectif des 2 types de stimuli dans les ajustements circulatoires à l'exercice. D'autre part, il est établi qu'à même $\dot{V}O_2$, le \dot{Q} et la FC sont plus élevés en pédalage EXC que CON (Knuttgen *et al.*, 1971; Thomson, 1971). Curieusement, la même observation a également été rapportée dans une étude différente concernant l'activité musculaire globale, mesurée par électromyographie de surface (EMG) (Bigland-Ritchie & Woods, 1976). Dès lors, la possibilité d'une relation entre les ajustements circulatoires et l'activité musculaire suggère une contribution de la commande centrale à la spécificité des ajustements circulatoires au pédalage EXC, laquelle demande à être précisée.

Notre dernière étude propose d'utiliser des exercices de pédalage EXC et CON réalisés à puissance constante afin de manipuler précisément les stimuli métaboliques et mécaniques dans le but:

- 1) d'estimer la contribution des stimuli métaboliques et mécaniques aux ajustements circulatoires à l'exercice de pédalage CON classique
- 2) d'évaluer le rôle de l'activité musculaire globale (activité EMG) dans les ajustements circulatoires à l'exercice, indépendamment des stimuli métaboliques et mécaniques.

III.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article soumis à publication à l'*American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*

Metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycling

Deciphering the metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycling

Stéphane P. DUFOUR¹, Stéphane DOUTRELEAU¹, Evelyne LONSDORFER-WOLF¹,
Eliane LAMPERT¹, Christine HIRTH²; François PIQUARD¹, Jean LONSDORFER³,
Bernard GENY¹, Bertrand METTAUER⁴ and Ruddy RICHARD¹

¹ *Service de Physiologie et d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital Civil and Département de Physiologie, UPRES E.A. 3072, Faculté de Médecine, Strasbourg, France*

² *Institut de Chimie Biologique, Faculté de Médecine, Strasbourg, France*

³ *Hôpital de la Robertsau, Strasbourg, France*

⁴ *Service de Cardiologie, Hôpitaux Civils, Colmar, France*

RUNNING HEAD: Metabolic and mechanical drive to cardiac output

Address for reprint request and other correspondence:

Stéphane Dufour,

Service de Physiologie et d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital Civil, 1, Place de l'Hôpital,
BP 426, 67091 Strasbourg Cedex, France,

Phone: +33 3 88 11 61 22

Fax: +33 3 88 11 64 67

Email: dufourst@hotmail.com

KEY WORDS: metabolic load, mechanical load, cardiac output, heart rate, circulatory control

Abstract:

Muscle metabolic demand and mechanical strain are closely coupled during exercise. Therefore, their respective drives to the circulatory response have been difficult to establish. As this coupling is altered in eccentric cycling, we implemented an experimental design featuring eccentric vs. concentric constant-load cycling bouts to gain new insights in human circulatory control during exercise. Heart rate (HR), stroke volume (SV), cardiac output (\dot{Q}), oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) and electromyographic (EMG) activity of quadriceps muscles were determined in 11 subjects at baseline and during heavy concentric (HC), low concentric (LC) and high eccentric (HE) cycle exercises. HE and LC were designed to elicit similar $\dot{V}O_2$ ($\sim 1.15 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) whereas HC and HE were set at equivalent power output ($270 \pm 13 \text{ W}$). Subsequently, the difference of circulatory response observed between HC vs. LC was ascribed to either its metabolic component, as estimated from HE vs. HC, or its mechanical component, as estimated from HE vs. LC. SV responses to exercise were almost exclusively determined by the metabolic load, which also accounted for 75% and 66% of the \dot{Q} and HR responses respectively. Mechanical loading appeared to exert a significant influence on the circulatory adjustments, accounting for 25% and 33% of the \dot{Q} and HR response respectively. \dot{Q} and HR responses were strongly associated with EMG changes, whatever the type of loading. These results suggest that circulatory adjustments to exercise are under simultaneous metabolic and mechanical control and also support the idea that the circulatory response is adjusted to muscle activity during high-intensity cycle exercise in humans.

INTRODUCTION

Because of its pivotal role in setting systemic oxygen (O_2) delivery, cardiac output (\dot{Q}) is considered as a determining factor of aerobic exercise capacity in both health(14) and many disease states(40). Therefore, the understanding of its regulation is of clinical and physiological relevance. Both heart rate (HR) and stroke volume (SV) are direct determinants of \dot{Q} adjustments during exercise and their observed responses are expected to be driven by metabolic (i.e. energy demand, metabolite release) and/or mechanical (i.e. muscle tension) components of the exercise workload. Metabolic and mechanical stressors are further integrated in the exercising organism to determine the \dot{Q} response to exercise, not only via the central nervous command, the arterial baroreflex and the skeletal muscle pump, but also by metabolic, mechanical or thermal muscle reflexes (33). Consequently, \dot{Q} adjustments during exercise may respond either to metabolic perturbations and/or to muscle tension-related mechanisms but their respective contribution in whole body exercising humans remains largely unknown.

In traditional (i.e. concentric, CON) two-legged cycling, both the metabolic and mechanical stressors act simultaneously with increasing power output, eliciting a \dot{Q} response expected to match the metabolic demand of muscle activation (32). In two-legged eccentric (i.e. forced lengthening of activated muscle, ECC) cycling, \dot{Q} response has been demonstrated to be lower than in CON cycling at similar mechanical loading (11, 37) (i.e. same power output), together with lower muscle activation (7). This observation is in agreement with the lower metabolic demand of ECC cycling (1, 2). However, when compared at identical levels of metabolic loading (i.e. same level of whole body oxygen uptake, $\dot{V}O_2$), a greater \dot{Q} response is elicited in ECC vs. CON cycling (11, 37), associated with higher muscle activation (7). Taken this and the above information into account, ECC cycle exercise offers

the opportunity to specifically induce target levels of metabolic and mechanical loads, which may allow further investigation of the regulatory mechanisms underlying the \dot{Q} response to exercise.

The principal aim of this study was to establish the respective contribution of metabolic demand and mechanical load as the main stressors eliciting the \dot{Q} response to exercise. A second objective of this work was to determine the influence of metabolic and mechanical loadings on the relationship between muscle activation and \dot{Q} response to exercise. To achieve these goals, the comparison of CON vs. ECC two-legged cycle exercises, involving large muscle masses, is thought to shed lights on the physiological responses of interest. Therefore, we implemented an experimental design, featuring CON vs. ECC constant-load cycle exercises, performed either at similar O_2 utilization rates or identical power output.

METHODS

Subjects

Eleven healthy men (age, 27.7 ± 1.9 (\pm SEM) years; height, 179.5 ± 1.5 cm; body mass, 70.9 ± 2.5 kg) were recruited to participate in this study, which had local institutional and ethics approval. All subjects displayed no history of muscle, tendinous or articular problems and gave voluntary written consent to participate.

Study design

Habituation period. To avoid muscle, tendinous and articular problems commonly associated with ECC exercise, as well as to acquire the specific coordination of ECC pedaling, all subjects underwent habituation sessions (11, 30), within two weeks preceding the study. 10-min ECC pedaling was used in 4 habituation sessions. The ECC power output reached 200 W in the last session, which was performed at least 3 days before the start of the experiments.

Experimental sessions. Each subject completed four cycle tests at 60 rpm at the same time of day in a climate controlled environment, separated by 24h rest. During the first experimental day, the subjects performed an incremental cycle test (30W/min) to exhaustion in the conventional CON mode in order to determine maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2\max}$), ventilatory threshold (VT) (6) and their associated mechanical power outputs ($p\dot{V}O_{2\max}$ and pVT respectively). $p\dot{V}O_{2\max}$ and pVT were used to determine the individual work rate corresponding to Δ_{70} (Δ_{70}), i.e. located at $pVT + 70\%$ of the difference between the subject's pVT and $p\dot{V}O_{2\max}$ ($\Delta_{70} = pVT + 0.7 \times [p\dot{V}O_{2\max} - pVT]$).

The remaining experimental tests consisted in 4-min of CON baseline pedaling at 15 W, followed by 6-min constant-load cycling bouts: i) a heavy intensity concentric at Δ_{70} (HC); ii) a high intensity eccentric at Δ_{70} (HE) and iii) a light intensity concentric (LC) designed to elicit the same $\dot{V}O_2$ level as in HE. Using a reductionist approach (22, 42), we obtained conditions (see Fig. 1) in which the cardiovascular response could be ascribed to: first) simultaneous involvement of metabolic and mechanical loadings, (HC vs. LC, Metabolic+Mechanical); second) changes in metabolic loading only, by eliminating the mechanical component of exercise (HC vs. HE, Metabolic); third) changes in mechanical loading only, by elimination of the metabolic requirements of exercise (HE vs. LC, Mechanical).

CON and ECC ergometer. All exercises were performed on the same specific half-sitting position ergometer (Recline XT, TechnoGym, Gambettola, Italy) that was modified for ECC pedaling (11). A motor allows the pedal to be driven in a reverse direction from normal pedaling in ECC mode and also permits setting resistances in CON mode. The seat and handlebar positions were adjusted to each subject's morphology and kept constant for the ECC and CON tests.

Pulmonary gas exchange. Gas exchange ($\dot{V}O_2$, carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$)) were collected breath-by-breath (Ergocard with Exp'Air software version 1.26.35, Medi-Soft, Dinant, Belgium).

Cardiac output. Impedance cardiography was used to measure stroke volume (SV) and HR was obtained from an electrocardiogram (ECG) concomitantly (Physio Flow, Manatec, type PF05L1, Paris, France) (9, 31).

Electromyography of the thigh muscles. Electromyographic activity of the *vastus lateralis* (VL), *vastus medialis* (VM) and *rectus femoris* (RF) muscles of the right thigh were continuously recorded during each exercise. The surface EMG sampling was obtained at a rate of 2000 Hz (Chart V4.1.2, ADInstruments, Castle Hill, Australia), differentially amplified and filtered between 20 and 500 Hz (Dual Bio Amp, ADInstruments, Castle Hill, Australia). The root mean square of the EMG signal (RMS) was determined over 10 s at the end of the last minute of baseline as well as at the 3rd and 6th minute of each cycling bouts (30). RMS was expressed relative to the value recorded at the end of the 15 W baseline period. The normalized RMS values obtained from the 3 muscles were averaged to generate an index of the whole quadriceps muscle activity (RMS_{Quadriceps}).

Blood analysis. During each trial, blood samples were drawn from a catheter inserted into a forearm vein, at rest, at the end of baseline pedaling as well as at the 3rd and 6th minute of active pedaling. Samplings allows to determine total plasma lactate [La] by an enzymatic method (ABL 700 series, Radiometer, Denmark) and catecholamines concentration (adrenaline [Adre] and noradrenaline [Nor]) by high performance liquid chromatography (Gilson Inc, Middleton, USA) coupled with an electrochemical detection (Coulochem, ESA Biosciences Inc, Chelmsford, USA).

Blood pressure: At the same time as blood drawing, systolic and diastolic arterial blood pressure was measured from the right arm.

Calculations: To compare our impedance-derived data with theoretical values, we used the formulas of Astrand et al. (3). Mean arterial pressure (MAP) was calculated as $[(2 \times \text{diastolic blood pressure}) + \text{systolic blood pressure}]/3$. Total vascular conductance (ml/min/mmHg) was established from the ratio between \dot{Q} (ml/min) and MAP (mmHg).

The relationships between variables in the three exercise conditions were analyzed using the delta values for each parameter as follow: delta value = end exercise–baseline pedaling value.

Statistical analysis

A two-way (trial-by-time) repeated-measures ANOVA was employed to test significant differences between (HE, HC and LC) and within (rest, baseline, exercise) exercise bouts. After a significant F test, pairwise differences were localized by Newman-Keuls post hoc tests. Relationships between variables were established using Pearson correlation procedure. $P < 0.05$ was considered as statistically. All results are expressed as means \pm SEM.

RESULTS

Incremental tests

$\dot{V}O_{2 \max}$ and $p\dot{V}O_{2 \max}$ amounted to 3.63 ± 0.19 L/min and 322 ± 15 W respectively. V_T appeared at $50 \pm 2\%$ of $p\dot{V}O_{2 \max}$ corresponding to a power output of 156 ± 10 W. Therefore, the Δ_{70} intensity, subsequently employed for the HC and HE bouts, corresponded to a power output of 270 ± 13 W or $84 \pm 1\%$ of $p\dot{V}O_{2 \max}$.

Constant-load exercises: HC, HE and LC cycling bouts.

No differences appeared at rest and during baseline pedaling before HC, HE and LC bouts. The normalized RMS was similar at the end of baseline pedaling before all trials. Delta values (end-exercise minus baseline) obtained during each trial are indicated in Table 1.

Metabolic+Mechanical control of the circulatory response (HC vs. LC): HC was characterized by ~5 times higher Δ power output (i.e. mechanical load) and $\Delta\dot{V}O_2$ (i.e. metabolic load) simultaneously (Figure 2 and Table 1). Consequently, $\Delta\dot{Q}$, Δ HR, Δ MAP, Δ SVC, Δ [La], Δ [Adre] and Δ [Nor] were higher in HC vs. LC. In HC vs. LC, the $\Delta\dot{Q}$ and Δ HR correlated with the $\Delta\dot{V}O_2$ (Figures 3A-B; $r=0.90$ and $r=0.82$ respectively; $P<0.05$; $n=22$) and Δ power output (Figures 3C-D; $r=0.91$ and $r=0.80$ respectively; $P<0.05$; $n=22$).

Metabolic control of the circulatory response (HC vs. HE): Despite identical power output fixed at Δ_{70} (i.e. 270 ± 13 W), HC induced a ~5 times greater $\Delta\dot{V}O_2$ compared to HE (Figure 2 and Table 1). $\Delta\dot{Q}$ was 2.3 times greater in HC vs. HE. At end-exercise Δ MAP as well as Δ HR, Δ SV and Δ SVC were higher in HC vs. HE (Table 1). Higher Δ [La], Δ [Adre] and Δ [Nor] at end-exercise also appeared in HC vs. HE. $\Delta\dot{Q}$ and Δ HR significantly correlated with $\Delta\dot{V}O_2$ (Table 2 and Figures 3A-B; $r=0.83$ and $r=0.85$ respectively; $P<0.001$; $n=22$). As the influence of mechanical load was eliminated when comparing HC vs. HE, metabolic loading account for 65 ± 7 , 85 ± 16 and $74\pm 7\%$ of the Δ HR, Δ SV and $\Delta\dot{Q}$ responses in the Metabolic+Mechanical condition (Figure 4 and Table 2).

Mechanical control of the circulatory response (HE vs. LC): By design, LC was featured to elicit the same ΔO_2 utilization rate than HE (i.e. ~ 0.55 L/min) and ~5 times greater Δ power output was required in HE vs. LC. $\Delta\dot{Q}$ was ~2 times higher in HE vs. LC through higher Δ HR and no difference in Δ SV. Concomitantly, Δ MAP and Δ SVC were also higher in HE (Table 1). Similar end-exercise Δ [La] was obtained in HE vs. LC but Δ [Adre] was ~40 times greater and Δ [Nor] was not different. $\Delta\dot{Q}$ and Δ HR were related to Δ power output (Figures 3C-D; $r=0.67$ and $r=0.74$ respectively; $P<0.001$; $n=22$). Since the effects of metabolic load were suppressed when comparing HE vs. LC, mechanical load account for 35 ± 7 , 16 ± 16 and

22±7% of the Δ HR, Δ SV and $\Delta\dot{Q}$ responses observed in the Metabolic+Mechanical condition (Figure 4 and Table 2).

Muscle activity and circulatory response: As shown in Figure 5A for a representative subject, significant differences consistently appeared between trials in all the active muscles investigated. Therefore, we averaged the nor RMS recorded from the three muscles of the quadriceps to obtain nor RMS_{Quadriceps} and perform the subsequent analysis. Nor RMS_{Quadriceps} was 2 times higher in HC vs. HE, despite identical power output (Figure 5B and Table 1). Conversely, although HE and LC required similar $\Delta\dot{V}O_2$, nor RMS_{Quadriceps} was 2 times greater in HE. Interestingly, as shown in Figures 4C-F, $\Delta\dot{Q}$ and Δ HR responses were strongly related to nor RMS_{Quadriceps} in the three experimental conditions, including exercising at identical power output ($r=0.81$ and $r=0.86$ respectively; $P<0.001$; $n=22$) or similar $\dot{V}O_2$ ($r=0.91$ and $r=0.79$ respectively; $P<0.001$; $n=22$).

DISCUSSION

The present study aimed to estimate the respective contribution of the metabolic demand and mechanical load to the circulatory response during two-legged high-intensity cycle exercises. Three major findings arise: first) the metabolic demand *per se* was demonstrated to be the major contributor to the \dot{Q} response (73%), through HR (66%) and SV (85%) contributions; second) mechanical loading *per se* account for 27% of the \dot{Q} adjustment, mainly via HR (34%) and to a lesser extend SV (15%); third) \dot{Q} and HR responses during high-intensity cycle exercise are related to muscle activity, whatever the metabolic and/or mechanical constraints.

Metabolic demand as the major driving factor for circulatory responses during high-intensity cycle exercise

HC and HE cycle bouts were performed at similar power output, (i.e. 270W). Since pedal frequency was kept constant between and within trials, muscle tension was identical in HC vs. HE. Therefore, difference in \dot{Q} response between HC and HE cycle bouts are ascribed to the difference in metabolic demand, as estimated by ~ 2.4 L/min $\dot{V}O_2$ and ~ 5.6 mmol/L [La]. When compared to the Metabolic+Mechanical loading condition (i.e. HC vs. LC), we observed that the metabolic demand *per se* (i.e. HC vs. HE) determine 73% of the \dot{Q} response. The present results extend previous findings on muscle blood flow in animals and humans (19, 20) to the whole body systemic level and provide a quantitative estimation of the influence of whole body metabolic demand on circulatory responses.

This tight coupling between \dot{Q} and metabolic demand was achieved through HR and SV changes. Of note, metabolic demand *per se* account for 66% of the HR response. Although the exact pathways underlying HR response to exercise remain elusive, they are expected to imply a central command, acting as a feed forward neural process, and/or peripheral reflexes, mediated by metabolic, mechanical and thermal inputs originating in skeletal muscles (33). With increased metabolic demand, accumulation of by-product compounds in exercising muscles (i.e. H^+ , La) is likely, as suggested by the observed near maximal blood lactate response (i.e. $\sim 90\%$). Subsequent diffusion within in the interstitium milieu might have activated the metabosensitive nerve endings of type III and IV afferent fibers (12), leading to increased sympathetic activity toward the heart (36). This possibility is also supported by the observed plasma norepinephrine response (i.e. $\sim 100\%$).

Besides HR, SV response (85%) was actually shown to be an important part of the circulatory response to increased metabolic demand. Of note, SVC exhibited similar responses, suggesting that SV could be largely related to whole-body vascular tone, and especially the

level of vasodilation in active muscles. Such a mechanism may elicit SV changes via increased venous return and pre-load, further emphasizing the primary role of the left ventricular filling pressure and end-diastolic volume on SV adjustments during exercise (21). Metabolic demand is known to induce vasodilation in exercising muscle as soon as exercise intensity is sufficiently high to elicit functional sympatholysis (38). Consequently, vascular tone is closely coupled to \dot{Q} , resulting in a tight control of MAP during exercise. This is in agreement with the modest contribution of metabolic demand *per se* to the observed MAP response (35%).

Circulatory response to high-intensity cycle exercise reacts substantially to the mechanical drive

HE and LC cycle bouts were designed to achieve the same $\dot{V}O_2$ values, corresponding to ~ 1.1 L/min. Together with similar blood lactate in HE and LC (0.7 vs. 0.1 mmol/L respectively), we assumed that both trials were performed at near-identical metabolic demand. Therefore, difference in \dot{Q} response between HE and LC cycle bouts are expected to arise from difference in power output (i.e. 200 W). According to the work of Coyle et al.(10), the corresponding difference in peak muscle tension may have approximated ~ 50 kg. When compared to the Metabolic+Mechanical loading condition (i.e. HC vs. LC), we observed that the mechanical load *per se* (i.e. HE vs. LC) account for 27% of the \dot{Q} response. Although it is considered that contractile work is not the primary determinant of local and systemic blood flow response, much of this knowledge originate from protocols in which metabolic demand was the dependent variable whereas mechanical load was kept constant (19, 20). The present results demonstrate that mechanical work *per se* may also exert a potent driving effect on \dot{Q} adjustments during exercise, as indicated by higher \dot{Q} in HE vs. LC trials. Whether this excess circulatory response is directed toward active muscles and/or other

inactive tissues (i.e. cutaneous territories) could not be determined from our results. However, as HE induced a lower calculated arteriovenous O₂ difference than LC (based on the Fick principle with \dot{Q} and $\dot{V}O_2$ values, unshown data), one possibility is that the excess systemic blood flow mainly perfused non-metabolically active tissues, thereby not affecting O₂ extraction. This “delinking” of \dot{Q} and metabolic demand (22) was mainly attributed to HR, which displayed a two times greater response to mechanical loading than does SV.

Our results demonstrate that 34% of the HR response during high-intensity exercise is related to the mechanical constraints exerted over the exercising limbs. In this context, cardioacceleratory signals may originate from muscle mechanoreceptors, which constitute about 10 % of the myelinated nerve fibers in all muscles (16). In the Mechanical condition, the large muscle tension is likely to have activated peripheral mechanoreceptors, leading to afferents inputs and sympathetic activation (13). The specific increase in plasma epinephrine in HE vs. LC, without changes in plasma norepinephrine support a mechanically-induced sympathetic activation, as previously suggested in animals and humans (26, 29, 39).

Conversely, mechanical work *per se* demonstrates a modest effect on SV (15%). This remaining effect may be related to exercise-induced intramuscular pressure oscillations (4), possibly facilitating venous return to the heart (i.e. muscle pump) (24). Therefore, the present results suggest that the skeletal muscle pump may not assume a convincing functional role in the SV response to high-intensity cycle exercise. Recent experimental findings support this idea (23) showing no effect of mechanical loading *per se* (by cuff inflations) on muscle stroke volume. Moreover, in cycling humans the effectiveness of the skeletal pump improved with pedal frequency but not pedal force (15). Collectively, these findings suggest that increased skeletal muscle force of contraction augments muscle stroke volume, but this effect might have been already fully implemented in LC, with no additional advantage at higher generated intramuscular pressure (5).

Experimental evidences in the present data suggest that mechanical loading *per se* is able to induce a modest but measurable vasodilation, as suggested by SVC response (19%). Although we cannot determine the physiological mechanisms of the observed mechanical effect, tension-induced vascular distortion might evoke a myogenic vasorelaxation. During muscle contraction, intramuscular pressure increases in proportion to the intensity of contraction (4) and deformation of resistance vessels occurs (17). This has been suspected to evoke a rapid and graded vasodilation, either via potential release of vasoactive substances from the endothelium or direct effect on vascular smooth muscle membrane potential (18, 19).

Neural integration of metabolic and mechanical loading: a role for muscle activity

From the “metabolic” theory, \dot{Q} and muscle blood flow responses are expected to provide a close matching of O_2 delivery to metabolic demand during exercise. This coupling may occur either via the release of vasodilator metabolic by-products (i.e. “pressure error” control) or through direct detection of by-products by afferents nerve fibers (i.e. “flow error” control) (32). A major observation of the present study is that such a metabolic control is not exclusive, at least at the systemic level, as indicated by the “delinking” of \dot{Q} and metabolic demand in the Mechanical loading condition. Conversely, whatever the experimental condition, muscle activity ($RMS_{\text{Quadriceps}}$) was always highly related to \dot{Q} and HR at end-exercise, despite manifold increases in metabolic and/or mechanical loadings. Therefore, mechanical loading *per se* may elicit a \dot{Q} response proportional to muscle activity and/or active muscle mass, as previously hypothesized (8, 27). The specific mechanisms by which this coupling occurs remain obscure. However, with more motor units activated and/or increased firing rate of previously active motor , both central and peripheral drives would be larger (28). Nevertheless, the observation that \dot{Q} response was best related to muscle activity

than to metabolic demand or muscle tension, suggest that metabolic and/or mechanical-induced neural feedback may not represent the major driving signals for circulatory adjustments during high-intensity cycle exercise in humans.

Since increased involvement of motor units has been assumed to be of central origin (25), an alternative possibility is that the link between muscle activity and systemic cardiovascular response may originate in the higher brain centers. The concept of cortical cardiovascular control (central command) proposes a parallel regulation of both the motor and cardiovascular systems. Such a relationship between circulatory response and muscle activity has already been demonstrated in isometric exercises (35, 41) and agree with a key role of centrally coded motor unit recruitment in the development of blood pressure and HR under static conditions (28). The present study provides evidence that similar mechanisms pertained in high-intensity cycle exercises, involving large muscle masses. As previously suggested (34), the functional role of muscle recruitment in the control of \dot{Q} during dynamic exercise might be integrated in the central nervous system, via the regulation of SVC in order not to override the limited pumping capacity of the human heart.

CONCLUSION

Although the metabolic demand was demonstrated to be the main driving factor for \dot{Q} adjustment during high-intensity cycle exercise, this study also shows the importance of non metabolic stressors, related to muscle tension in the exercising limbs, mainly affecting HR and to a lesser extend SV. The underlying mechanisms can not be definitively established from the present results but may likely involve a key contribution of the central command. Collectively, the present findings provide new elements for the integrative pathways that contribute to cardiovascular adjustments during exercise and support the idea that both the cardiovascular and motor command are regulated simultaneously in high-intensity cycle exercises.

REFERENCES

1. **Abbott BC and Bigland B.** The effects of force and speed changes on the rates of oxygen consumption during negative work. *J Physiol* 120: 319-325, 1953.
2. **Abbott BC, Bigland B and Ritchie JM.** The physiological cost of negative work. *J Physiol* 117: 380-390, 1952.
3. **Astrand PO, Cuddy TE, Saltin B and Stenberg J.** Cardiac output during submaximal and maximal work. *J Appl Physiol* 19: 268-274, 1964.
4. **Ballard RE, Watenpaugh DE, Breit GA, Murthy G, Holley DC and Hargens AR.** Leg intramuscular pressures during locomotion in humans. *J Appl Physiol* 84: 1976-1981, 1998.
5. **Barendsen GJ and van den Berg JW.** Venous capacity, venous refill time and the effectiveness of the calf muscle pump in normal subjects. *Angiology* 35: 163-172, 1984.
6. **Beaver WL, Wasserman K and Whipp BJ.** A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 60: 2020-2027, 1986.
7. **Bigland-Ritchie B and Woods JJ.** Integrated electromyogram and oxygen uptake during positive and negative work. *J Physiol* 260: 267-277, 1976.
8. **Blomqvist CG, Lewis SF, Taylor WF and Graham RM.** Similarity of the hemodynamic responses to static and dynamic exercise of small muscle groups. *Circ Res* 48: 187-92, 1981.
9. **Charloux A, Lonsdorfer-Wolf E, Richard R, Lampert E, Oswald-Mammosser M, Mettaufer B, Geny B and Lonsdorfer J.** A new impedance cardiograph device for the non-invasive evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the "direct" Fick method. *Eur J Appl Physiol* 82: 313-320, 2000.
10. **Coyle EF, Feltner ME, Kautz SA, Hamilton MT, Montain SJ, Baylor AM, Abraham LD and Petrek GW.** Physiological and biomechanical factors associated with elite endurance cycling performance. *Med Sci Sports Exerc* 23: 93-107, 1991.
11. **Dufour SP, Lampert E, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Billat VL, Piquard F and Richard R.** Eccentric cycle exercise: training application of specific circulatory adjustments. *Med Sci Sports Exerc* 36: 1900-1906, 2004.
12. **Ettinger S, Gray K, Whisler S and Sinoway L.** Dichloroacetate reduces sympathetic nerve responses to static exercise. *Am J Physiol* 261: H1653-1658, 1991.

13. **Gladwell VF and Coote JH.** Heart rate at the onset of muscle contraction and during passive muscle stretch in humans: a role for mechanoreceptors. *J Physiol* 540: 1095-1102, 2002.
14. **Gonzalez-Alonso J and Calbet JA.** Reductions in systemic and skeletal muscle blood flow and oxygen delivery limit maximal aerobic capacity in humans. *Circulation* 107: 824-830, 2003.
15. **Gotshall RW, Bauer TA and Fahrner SL.** Cycling cadence alters exercise hemodynamics. *Int J Sports Med* 17: 17-21, 1996.
16. **Granit R.** *The Basis of Motor Control.* London: Academic Press, 1970.
17. **Gray SD, Carlsson E and Staub NC.** Site of increased vascular resistance during isometric muscle contraction. *Am J Physiol* 213: 683-689, 1967.
18. **Hamann JJ, Buckwalter JB and Clifford PS.** Vasodilatation is obligatory for contraction-induced hyperaemia in canine skeletal muscle. *J Physiol* 557: 1013-1020, 2004.
19. **Hamann JJ, Buckwalter JB, Clifford PS and Shoemaker JK.** Is the blood flow response to a single contraction determined by work performed? *J Appl Physiol* 96: 2146-2152, 2004.
20. **Hamann JJ, Kluess HA, Buckwalter JB and Clifford PS.** Blood flow response to muscle contractions is more closely related to metabolic rate than contractile work. *J Appl Physiol* 98: 2096-2100, 2005.
21. **Higginbotham MB, Morris KG, Williams RS, McHale PA, Coleman RE and Cobb FR.** Regulation of stroke volume during submaximal and maximal upright exercise in normal man. *Circ Res* 58: 281-291, 1986.
22. **Joyner MJ and Proctor DN.** Muscle blood flow during exercise: the limits of reductionism. *Med Sci Sports Exerc* 31: 1036-1040, 1999.
23. **Kirby BS, Markwald RR, Smith EG and Dinunno FA.** Mechanical effects of muscle contraction do not blunt sympathetic vasoconstriction in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H1610-1617, 2005.
24. **Laughlin MH.** Skeletal muscle blood flow capacity: role of muscle pump in exercise hyperemia. *Am J Physiol* 253: H993-1004, 1987.
25. **Lippold OC.** The relation between integrated action potentials in a human muscle and its isometric tension. *J Physiol* 117: 492-499, 1952.
26. **Matsukawa K, Sadamoto T, Tsuchimochi H, Komine H, Murata J and Shimizu K.** Reflex responses in plasma catecholamines caused by static contraction of skeletal muscle. *Jpn J Physiol* 51: 591-597, 2001.

27. **McCloskey DI and Mitchell JH.** Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol* 224: 173-186, 1972.
28. **Mitchell JH, Payne FC, Saltin B and Schibye B.** The role of muscle mass in the cardiovascular response to static contractions. *J Physiol* 309: 45-54, 1980.
29. **Pawelczyk JA, Pawelczyk RA, Warberg J, Mitchell JH and Secher NH.** Cardiovascular and catecholamine responses to static exercise in partially curarized humans. *Acta Physiol Scand* 160: 23-28, 1997.
30. **Perrey S, Betik A, Candau R, Rouillon JD and Hughson RL.** Comparison of oxygen uptake kinetics during concentric and eccentric cycle exercise. *J Appl Physiol* 91: 2135-2142, 2001.
31. **Richard R, Lonsdorfer-Wolf E, Charloux A, Doutreleau S, Buchheit M, Oswald-Mammosser M, Lampert E, Mettauer B, Geny B and Lonsdorfer J.** Non-invasive cardiac output evaluation during a maximal progressive exercise test, using a new impedance cardiograph device. *Eur J Appl Physiol* 85: 202-207, 2001.
32. **Rowell LB.** Ideas about control of skeletal and cardiac muscle blood flow (1876-2003): cycles of revision and new vision. *J Appl Physiol* 97: 384-392, 2004.
33. **Rowell LB, O'Leary DS and Kellogg DLJ.** Integration of cardiovascular control systems in dynamic exercise. In: *Handbook of Physiology. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., 1996, p. 770-838.
34. **Saltin B.** Capacity of blood flow delivery to exercising skeletal muscle in humans. *Am J Cardiol* 62: 30E-35E, 1988.
35. **Schibye B, Mitchell JH, Payne FC and Saltin B.** Blood pressure and heart rate response to static exercise in relation to electromyographic activity and force development. *Acta Physiol Scand* 113: 61-66, 1981.
36. **Seals DR, Victor RG and Mark AL.** Plasma norepinephrine and muscle sympathetic discharge during rhythmic exercise in humans. *J Appl Physiol* 65: 940-944, 1988.
37. **Thomson DA.** Cardiac output during positive and negative work. *Scand J Clin Lab Invest* 27: 193-200, 1971.
38. **Tschakovsky ME, Rogers AM, Pyke KE, Saunders NR, Glenn N, Lee SJ, Weissgerber T and Dwyer EM.** Immediate exercise hyperemia in humans is contraction intensity dependent: evidence for rapid vasodilation. *J Appl Physiol* 96: 639-644, 2004.
39. **Victor RG, Rotto DM, Pryor SL and Kaufman MP.** Stimulation of renal sympathetic activity by static contraction: evidence for mechanoreceptor-induced reflexes from skeletal muscle. *Circ Res* 64: 592-599, 1989.

40. **Wasserman K and Whipp BJ.** Exercise physiology in health and disease. *Am Rev Respir Dis* 112: 219-249, 1975.
41. **Williamson JW, Olesen HL, Pott F, Mitchell JH and Secher NH.** Central command increases cardiac output during static exercise in humans. *Acta Physiol Scand* 156: 429-434, 1996.
42. **Wray DW, Donato AJ, Uberoi A, Merlone JP and Richardson RS.** Onset exercise hyperaemia in humans: partitioning the contributors. *J Physiol* 565: 1053-1060, 2005.

ACKNOWLEDGEMENTS

Special thanks are given to the subjects in this study. The excellent engineering assistance of JP Speich has been greatly appreciated for the conception, development and use of the eccentric ergometer. The authors also thank all the laboratory staff for his daily support as well as Sophie Bayer from the Clinical Analysis Department, for his help in the coordination of the biological measurements. This research was supported by the Clinical Research Department of the Strasbourg's civil hospital.

Table 1. Cardiovascular, metabolic and muscle activity responses at end-exercise during heavy concentric (HC), high eccentric (HE) and low concentric (LC) cycle bouts.

	HC	HE	LC
<u>Controlled parameters:</u>			
Δ Mechanical power output, W	255±13	255±13*	55±9†
Δ Oxygen uptake, L/min	2.99±0.17	0.57±0.15†	0.54±0.12†
<u>Cardiovascular response:</u>			
Δ Cardiac output, L/min	15.0±1.0	6.2±0.8*†	3.2±0.6†
Δ Theoretical cardiac output, L/min	15.2± 0.7	NA	3.8±0.6†
Δ Heart rate, beats/min	96±4	47±6*†	26±3†
Δ Stroke volume, ml	30±2	12±3*	5±2†
Δ Mean arterial pressure, mmHg	24±2	15±3*†	3±1†
Δ SVC, ml/min/mmHg	110±7	47±6*†	32±6†
<u>Blood parameters:</u>			
Δ Plasma Epinephrine, pg/ml	666±156	45±15*†	1.1±7†
Δ Plasma Norepinephrine, pg/ml	4228±916	47±36†	105±39†
Δ Plasma Lactates, mmol/L	6.8±0.7	0.7±0.4†	0.1±0.1†
<u>Muscle activity :</u>			
Normalized RMS of the quadriceps	9.4±0.4	3.8±0.5*†	2.2±0.2†

HC, heavy concentric. HE, high eccentric. LC, light concentric. Values are means±SEM for 11 subjects. Δ , delta values (end-exercise minus baseline). Theoretical \dot{Q} values: \dot{Q} calculated from the equations of Astrand et al.(3). NA: non available. SVC, systemic vascular conductance. * Significantly different from LC, P<0.05. † Significantly different from HC, P<0.05.

Table 2. Cardiovascular, metabolic and muscle activity responses during the Metabolic + Mechanical, Metabolic and Mechanical experimental conditions

	Metabolic + Mechanical	Metabolic	Mechanical
<u>Compared exercise bouts</u>	HC-LC	HC-HE	HE-LC
<u>Controlled variables:</u>			
Mechanical power output, W	201±11	0±0*†	201±11
Oxygen uptake, L/min	2.45±0.17	2.42±0.13*	0.03±0.07†
<u>Circulatory responses:</u>			
Cardiac output, L/min	11.7±0.9	8.7±1.0*†	3.0±0.6†
Heart rate, beats/min	70±6	49±8*†	21±3†
Stroke volume, ml	25±4	18±3*	7±4†
Mean arterial pressure, mmHg	22±3	9±4†	13±3
SVC, ml/min/mmHg	78±5	63±7*	15±5†
<u>Blood parameters:</u>			
Plasma Epinephrine, pg/ml	665±156	621±158*†	44±11†
Plasma Norepinephrine, pg/ml	4123±891	4180±908*	-57±38†
Plasma Lactates, mmol/L	6.6±0.7	5.6±1.2*	0.6±0.4†
<u>Muscle activity:</u>			
Normalized RMS of the quadriceps	7.2±0.8	5.2±1.1*†	2.0±0.5†

Metabolic+Mechanical, Metabolic and Mechanical, experimental conditions in which these contributors to the circulatory response are controlled. Values are means±SEM of the difference in the delta values for 11 subjects. SVC, systemic vascular conductance. * Significantly different from Mechanical, P<0.05. † Significantly different from Metabolic+Mechanical, P<0.05.

Legends

Figure 1. Study design and experimental interpretation

The first part of the study was a 2-wk habituation period. Subsequently, each subject realized a concentric incremental exercise test and three 6-min constant-load cycling bouts: heavy concentric (HC), high eccentric (HE) and light concentric (LC). See text for details of experimental interpretation.

Figure 2. Time course of oxygen uptake and circulatory responses during the heavy concentric (HC), high eccentric (HE) and light concentric (LC) cycling bouts.

Data correspond to baseline 15 W and dynamic cycling in each exercise condition. Time 0 corresponds to the beginning of the 6-min dynamic cycling bouts. Data are mean+SEM of 11 subjects. A, oxygen uptake. B, cardiac output. C, heart rate. D, stroke volume. Statistical differences at end-exercise: * HC different from LC; † HC different from HE; ‡ HE different from LC, all $P < 0.05$.

Figure 3. Relationship between circulatory response and oxygen uptake, power output and muscle activation during the heavy concentric (HC), high eccentric (HE) and light concentric (LC) cycling bouts.

Each point represents the mean \pm SEM ($n=11$) of the delta values (end exercise-end baseline value) measured during each cycling bouts. Panels A and D show the respective rise in cardiac output and heart rate as a function of oxygen uptake. Panels B and E display the respective rise in cardiac output and heart rate as a function of power output. Panels C and F demonstrate the relationship between quadriceps muscle activity and the cardiac output and heart rate response respectively. The solid line indicates the relationship between variables in CON cycling only, i.e. when the circulatory response is determined by both metabolic and mechanical stressors. Note that HE trial significantly diverge from this relationship for

oxygen uptake and power output but not nor $\text{RMS}_{\text{Quadriceps}}$, indicating that metabolic and mechanical loading account separately for part of the circulatory response in CON cycling, whereas circulatory response seems tightly coupled to muscle activity.

Figure 4. Relative contribution of metabolic and mechanical loadings to the cardiovascular response during exercise.

Each bar represents the mean \pm SEM (n=11) of the differences in the delta values (end exercise-end baseline value) in HC vs. HE (Metabolic loading) and in HE vs. LC (Mechanical loading), and expressed as a percentage of the difference in HC vs. LC (Metabolic + Mechanical loading). \dot{Q} , HR, SV, MAP and SVC, cardiac output, heart rate, stroke volume, mean arterial pressure and systemic vascular conductance respectively. *, Metabolic and Mechanical loadings influenced differently MAP than other parameters during exercise, $P < 0.05$.

Figure 5. Muscle electrical activity during the heavy concentric (HC), high eccentric (HE) and light concentric (LC) cycling bouts.

Panel A: 5s segments of raw EMG recordings obtained from the *rectus femoris* muscle at the time interval 5min 50s – 5min 55s in one subject exercising at 275W for HC and HE and 75W LC bouts. Note that no significant differences were apparent in the baseline 15W pedaling.

Panel B: Values correspond to the root mean square of the surface EMG recorded during the last 10s of each exercise condition. Data are means \pm SEM (n=11). HC, heavy concentric. HE, high eccentric. LC, light concentric. * Significantly different from HC. \$ Significantly different from LC, all $P < 0.05$.

Figure 1.

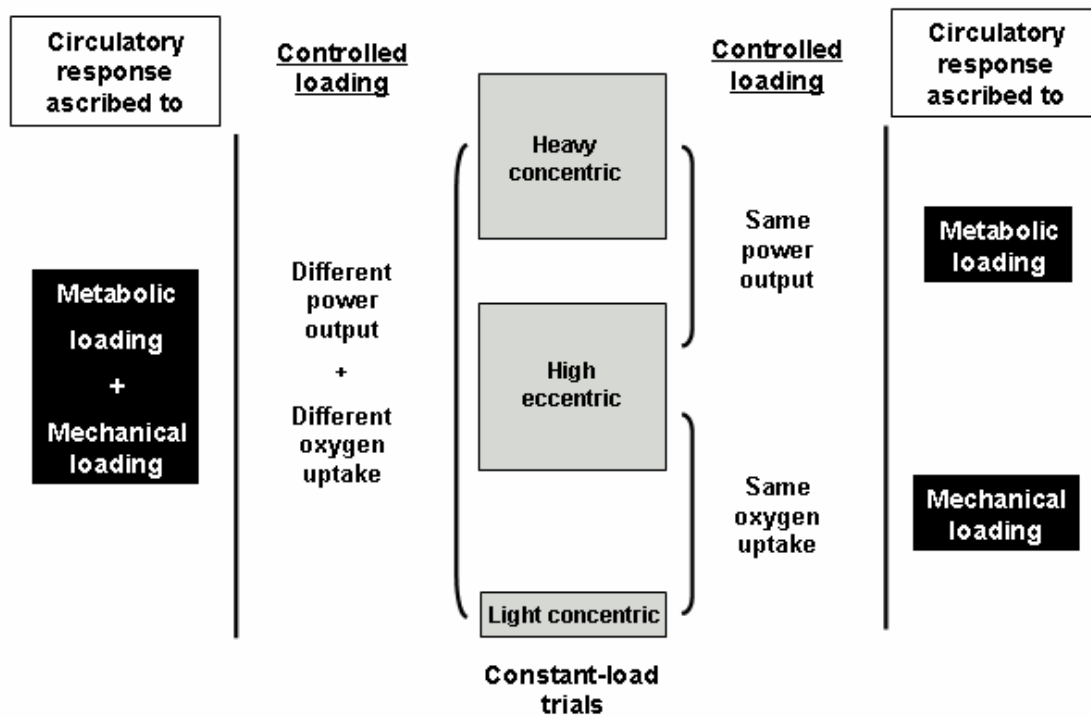
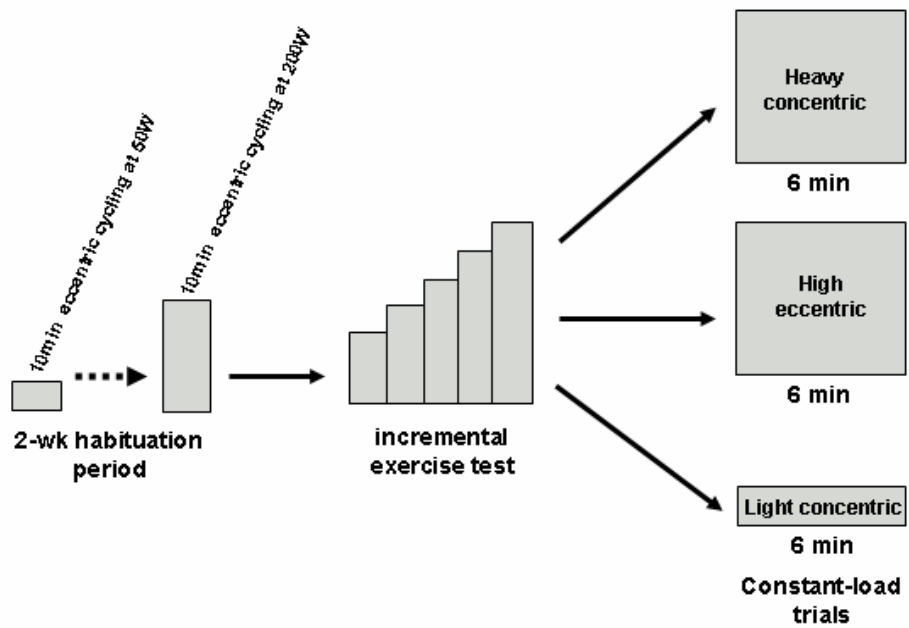


Figure 2.

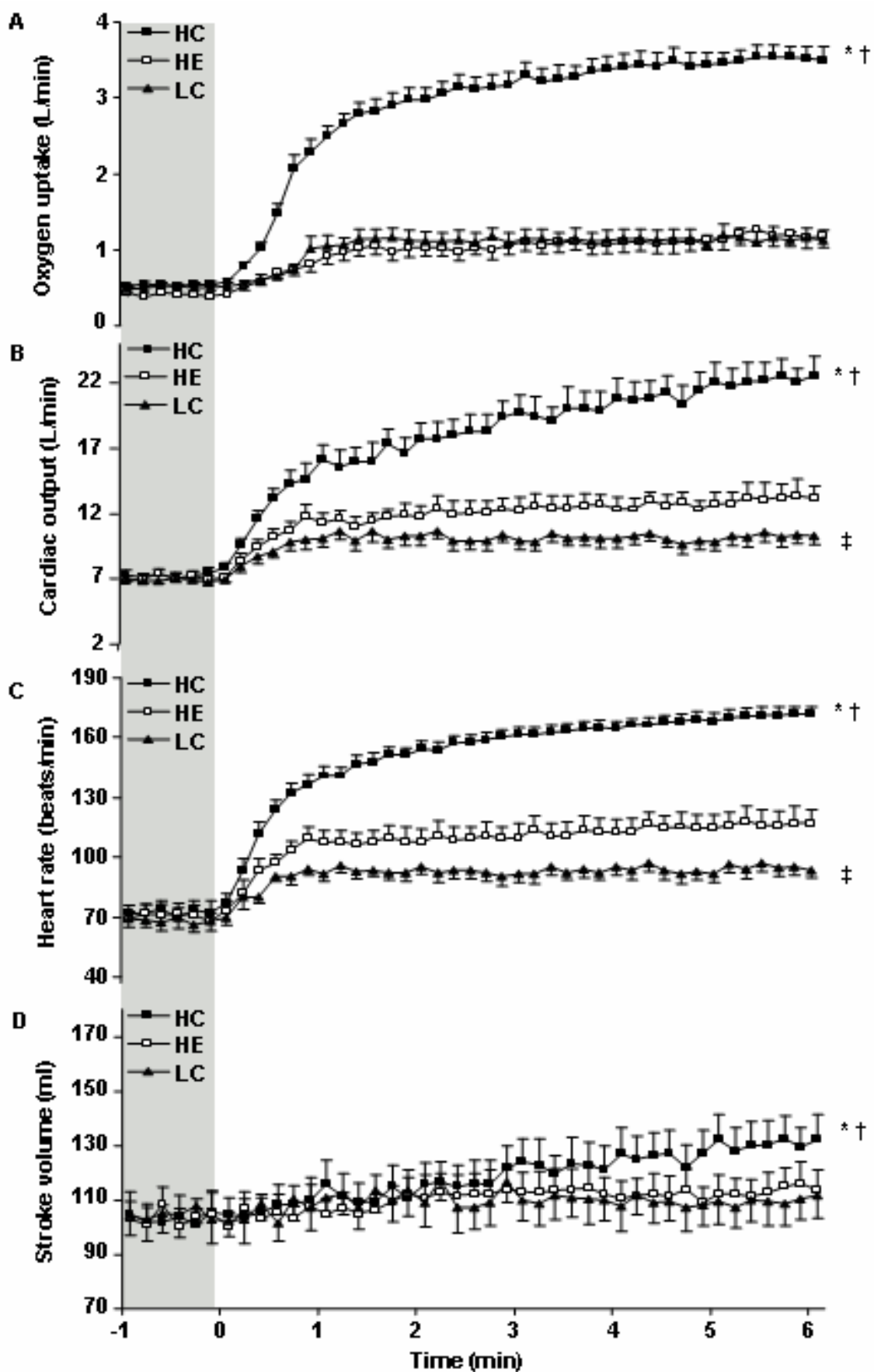


Figure 3.

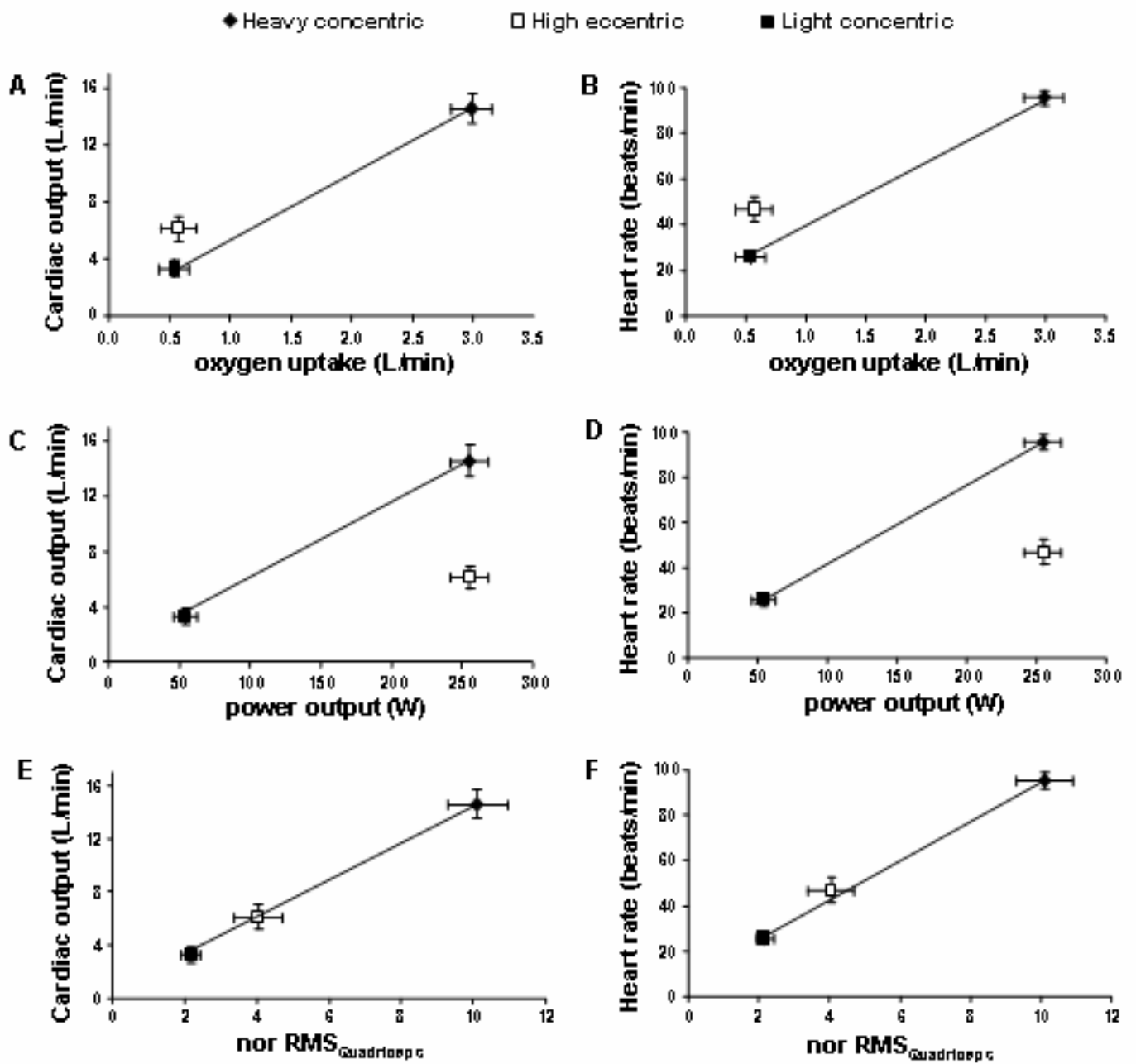


Figure 4.

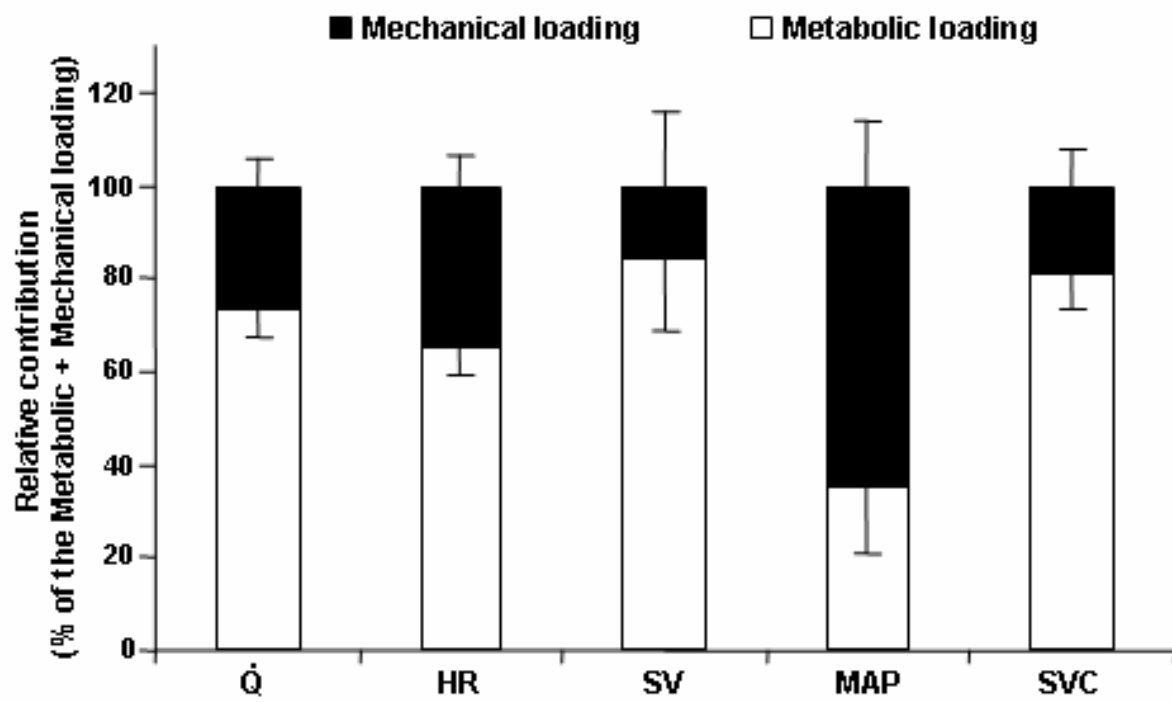
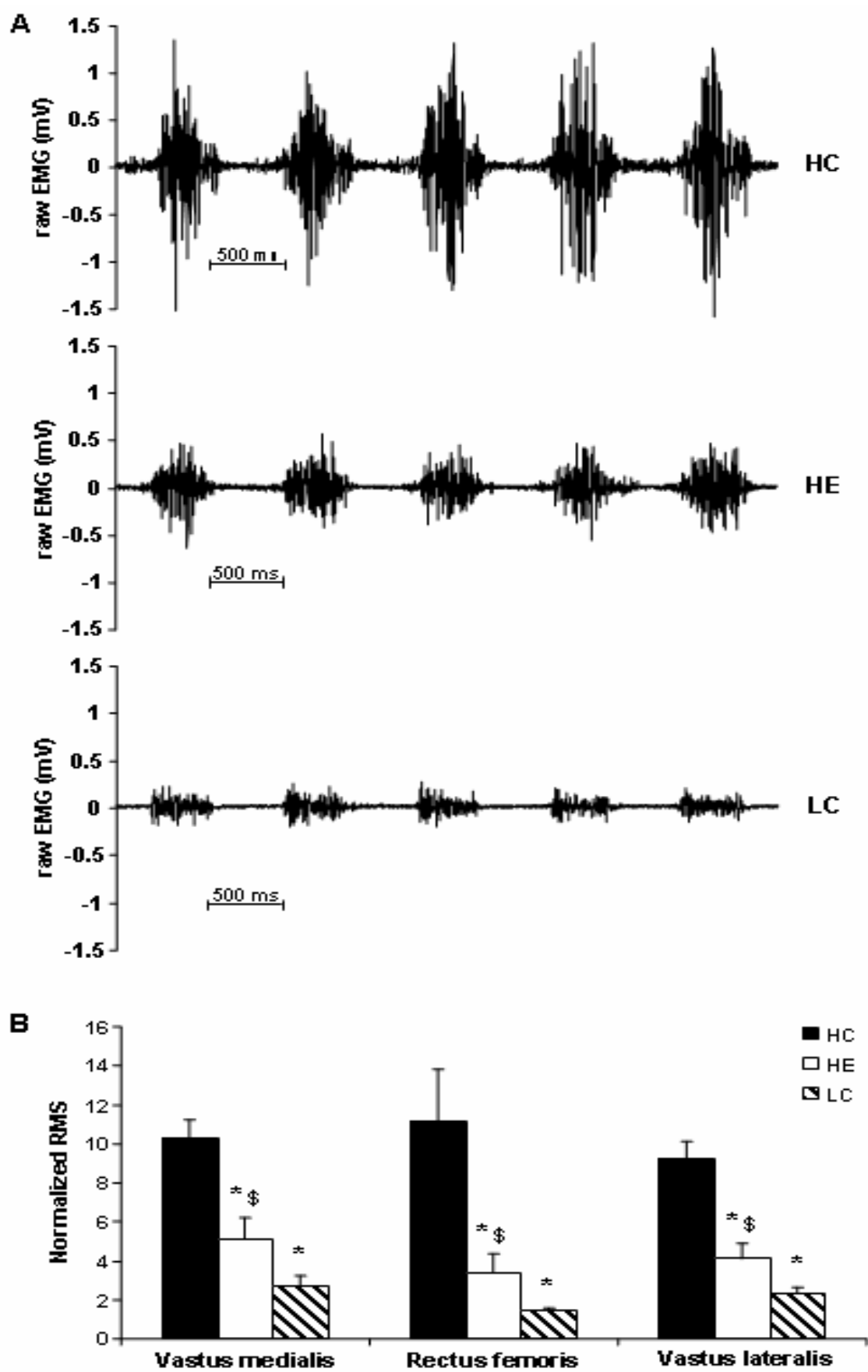


Figure 5.



Principaux résultats

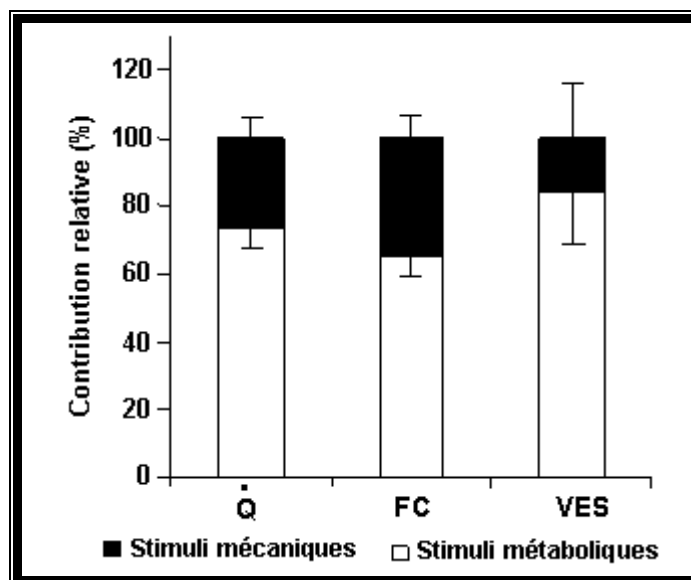


Figure 15: Estimation de la contribution relative des stimuli métaboliques et des stimuli mécaniques aux ajustements circulatoires observés à l'exercice de pédalage CON intense. Les stimuli métaboliques seraient responsables des $\frac{3}{4}$ de la réponse du \dot{Q} , via un effet puissant sur le VES et la FC. Les stimuli mécaniques assureraient $\frac{1}{4}$ de la réponse de \dot{Q} , surtout via leur effet sur la FC. n=11 sujets.

Le protocole expérimental utilisé dans cette étude procure 3 situations différentes dans lesquelles les ajustements circulatoires peuvent être quantifiés et sont établis en réponse à: 1) la présence simultanée des stimuli métaboliques et des stimuli mécaniques; 2) la contribution unique des stimuli métaboliques; 3) la contribution unique des stimuli mécaniques. Les résultats obtenus indiquent un rôle prépondérant des stimuli métaboliques dans les ajustements circulatoires à l'exercice. En effet, lorsque la puissance mécanique de pédalage en mode CON est augmentée de 200 W pour $2,4 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ de $\dot{V}O_2$, environ 75% de l'élévation du \dot{Q} sont attribués aux seuls stimuli métaboliques générés par l'exercice. Cet ajustement du \dot{Q} en réponse aux stimuli métaboliques *per se* est obtenu via l'augmentation de la FC et du VES, dont les réponses à l'exercice CON intense semblent régulées à hauteur de 66 et 85% respectivement par les stimuli métaboliques.

D'autre part, cette étude a permis d'estimer la contribution des stimuli mécaniques aux ajustements circulatoires à l'exercice, lesquels apparaissent comme responsables d'environ 25% de l'augmentation du \dot{Q} à l'exercice de pédalage CON intense. Cette réponse est principalement liée à l'effet des stimuli mécaniques sur la FC, dont ils semblent contrôler environ 34% de la réponse à l'exercice, pour seulement 15% de la réponse de VES.

Une relation étroite entre les ajustements circulatoires (principalement FC et \dot{Q}) et l'activité EMG des muscles du quadriceps impliqués dans le pédalage a été observée, quelque soit le type d'action musculaire. Indépendamment du niveau de stimulation métabolique ou mécanique, les ajustements circulatoires semblent établis de manière proportionnelle à l'activité électrique musculaire lors d'exercices de pédalage CON classiques intenses

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CHAPITRE I : DISCUSSION GENERALE

Les principaux objectifs de cette thèse étaient de caractériser le rôle des stimuli métaboliques et des stimuli mécaniques dans la mise en place des réponses adaptatives à l'exercice chez l'homme. Pour cela, nous avons proposé :

1) d'évaluer si un programme d'EAI, incluant seulement 2 séances/sem d'entraînement en altitude simulée (3000 m à vSV_2 pendant 24-40 min/séance), dans l'entraînement habituel des athlètes, génère une augmentation suffisante des stimuli métaboliques pour:

- améliorer la capacité de performance aérobie chez des coureurs à pied entraînés.
- induire des adaptations de la fonction mitochondriale du muscle squelettique, pouvant contribuer à l'amélioration potentielle de la capacité de performance aérobie des athlètes.
- exercer un effet spécifique au niveau transcriptionnel musculaire, potentiellement lié aux modifications fonctionnelles observées chez les athlètes (capacité de performance aérobie et fonction mitochondriale)

2) d'établir la faisabilité pratique d'une épreuve d'effort progressive en pédalage EXC, dans le but de déterminer précisément les valeurs de FC à utiliser en mode EXC et CON pour générer des niveaux identiques de $\dot{V}O_2$. Un deuxième objectif de cette étude était d'établir la variabilité interindividuelle de la correspondance des FC entre les 2 modes d'exercice.

3) d'estimer la contribution respective des stimuli métaboliques et des stimuli mécaniques dans les ajustements circulatoires à l'exercice de pédalage CON traditionnel intense ($85\% p \dot{V}O_{2\max}$) chez l'homme.

Les principaux résultats procurent des informations utiles à la mise en place de programmes d'entraînement visant à augmenter les stimuli métaboliques ou les stimuli mécaniques générés par l'entraînement des athlètes dans le but d'améliorer leur capacité de performance aérobie. En particulier, les résultats de ce travail peuvent être résumés comme suit:

1) l'inclusion d'une exposition modérée à l'altitude simulée (3000 m, jamais plus de 80 min/sem) lors de 2 séances/sem réalisées à vSV_2 , dans l'entraînement habituel d'athlètes entraînés permet:

- d'augmenter la $\dot{V}O_{2\max}$ (5%) et la $\dot{V}O_2$ à SV_2 (7%) mesurées en altitude et au niveau de la mer

- d'allonger le T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ (35%) mesuré au niveau de la mer sans modifier la cinétique d'ajustement de la $\dot{V}O_2$.

- d'améliorer le contrôle de la fonction mitochondriale (K_{m-Cr} augmente de 55% et K_{m+Cr} baisse de 42%) sans modifier les capacités oxydatives maximales du tissu musculaire (\dot{V}_{\max} inchangée). Le rôle fonctionnel de ces adaptations en terme de performance reste à établir mais pourrait avoir contribué à l'allongement du T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$.

- d'activer spécifiquement la transcription au niveau musculaire, incluant les gènes impliqués dans la détection de l'hypoxie tissulaire (HIF 1 α , 104%), dans l'équilibre acido-basique (MCT 1, 40% et AC3, 74%), la biogénèse mitochondriale (PGC1 α , 60%), le métabolisme mitochondrial (CS, 28%) et le transport transmembranaire du glucose (Glut 4, 32%). Bien que très éloignées d'un rôle fonctionnel, ces observations basées sur la quantification des ARNm musculaires pourraient représenter une voie potentielle liant l'augmentation des stimuli métaboliques à l'amélioration de la capacité de performance aérobie.

2) Concernant la gestion de l'intensité d'exercice en pédalage EXC:

- les épreuves d'effort progressives peuvent être réalisées en pédalage EXC et sont bien tolérées par les sujets.

- la FC doit être établie à des valeurs d'environ 17% supérieures en mode EXC vs. CON traditionnel pour correspondre à la même $\dot{V}O_2$ lors du pédalage.

- cette correspondance de FC est relativement variable d'un individu à l'autre (CV=30%) et nécessite d'être déterminée au cas par cas.

3) Concernant le rôle des stimuli métaboliques et mécaniques dans la régulation des ajustements circulatoires à l'exercice de pédalage CON traditionnel:

- les stimuli métaboliques exercent la majeure partie du contrôle des ajustements circulatoires à l'exercice et déterminent environ 75% et 66% des ajustements de \dot{Q} et de FC respectivement.

- les stimuli mécaniques apparaissent également comme de puissants signaux pour générer la réponse circulatoire à l'exercice, leur contribution étant estimée à 25% et 34% des ajustements de \dot{Q} et de FC respectivement.

- indépendamment du type de stimulation (métabolique vs. mécanique), les ajustements circulatoires à l'exercice semblent étroitement liés à l'activité électromyographique des muscles impliqués dans le mouvement.

I.1. L'entraînement en altitude intermittente comme modèle de stimulation métabolique

La première partie de ce travail visait à étudier les effets de l'entraînement en altitude intermittente comme modèle de stimulation métabolique, sur la capacité de performance aérobie d'athlètes entraînés et à identifier les mécanismes sous-jacents. Les principaux résultats sont discutés ci-dessous.

I.1.1. Originalité de l'entraînement en altitude intermittente

L'entraînement en altitude intermittente propose de n'inclure que quelques séances en altitude au sein de l'entraînement habituel des athlètes (Vallier *et al.*, 1996). L'objectif est d'introduire des stimuli métaboliques additionnels dans l'entraînement habituel des athlètes via la réalisation de quelques séances en altitude. En parallèle, les autres séances continuent d'être effectuées en normoxie, permettant de limiter les perturbations imposées aux stimuli mécaniques usuels de l'entraînement des athlètes. Séduisante sur le principe, cette modalité d'utilisation de l'altitude doit néanmoins faire face à une difficulté majeure: comment générer une simulation métabolique optimale via les séances en altitude, tout en limitant leur durée pour ne pas perturber l'entraînement habituel des athlètes? Avant nos travaux, 2 études, avec groupe contrôle, avaient tenté d'apporter une solution à ce problème. La première proposait d'utiliser 3 séances par semaine réalisées en altitude (3200 m) à SV_1 (75% P_{max} déterminée en altitude) pendant 30 min. Aucun effet bénéfique n'a pu être observé, ni en altitude, ni en normoxie (Ventura *et al.*, 2003). La seconde étude imposait également 3 séances/sem en altitude (2500 m) mais pour des exercices supra-maximaux ($>v \dot{V}O_{2\max}$) et très courts (30 secondes à 1 minute). Là encore, aucun effet bénéfique n'a pu être observé sur la capacité de performance aérobie en normoxie (Truijens *et al.*, 2003). Curieusement, ces études n'ont pas utilisé les même type d'exercice que ceux employés dans des études plus anciennes ayant démontré un effet bénéfique de l'entraînement complet en altitude chez les athlètes, notamment des exercices dont l'intensité est

> 80% $\dot{V}O_{2\max}$ en altitude sur des périodes répétées de plusieurs minutes (3-4 min) (Terrados *et al.*, 1988; Vallier *et al.*, 1996). Récemment, une durée d'exercice en altitude de 2 à 12 min a également été rapportée comme bénéfique pour la $\dot{V}O_{2\max}$ chez des athlètes entraînés (Roels *et al.*, 2005). Les protocoles d'EAI pouvaient être modifiés en tenant compte de ces observations afin de vérifier leur effet sur la capacité de performance des athlètes.

Notre proposition est d'utiliser deux séances hebdomadaires d'entraînement en altitude (3000 m) réalisées à vSV_2 (90% $v\dot{V}O_{2\max}$ d'altitude et 80% de $v\dot{V}O_{2\max}$ normoxique) lors de répétitions d'exercice de 12 à 20 minutes. L'hypothèse est que ce type de protocole permet de ne pas modifier les stimuli mécaniques de l'entraînement habituel des athlètes tout en générant des stimuli métaboliques supplémentaires via les 2 séances en altitude. La quantification de la charge d'entraînement des athlètes montre que la distance totale parcourue par les athlètes pendant les 6 semaines d'entraînement est identique dans le groupe HYP et dans le groupe NOR (478±27 vs. 498±40 km respectivement). La vitesse moyenne de l'entraînement est également identique dans les 2 groupes (HYP:14,3±0,2 vs. NOR: 14,2±0,3 km·h⁻¹ respectivement). Ces observations suggèrent que l'inclusion de 2 séances hebdomadaires d'entraînement en altitude dans l'entraînement habituel d'athlètes entraînés n'est pas suffisante pour altérer les stimuli mécaniques totaux de l'entraînement des athlètes. De plus, aucune différence n'est également apparue dans la distribution des intensités d'entraînement. Chaque groupe ayant réalisé la même quantité (absolue (min) et relative (% temps d'entraînement)) dans les zones définies pour remplir les carnets d'entraînement (< vSV_1 , entre vSV_1 et vSV_2 , entre vSV_2 et $v\dot{V}O_{2\max}$, > $v\dot{V}O_{2\max}$). Par contre, ces 2 séances suffisent manifestement pour induire un effet spécifique sur la capacité de performance aérobie des athlètes, confirmé au niveau de la fonction mitochondriale et de l'activité transcriptionnelle musculaire. Nous pensons que cet effet est étroitement lié à la présence de l'altitude simulée pendant leur déroulement, génératrice d'un surplus de stimulation métabolique.

I.1.2. Entraînement en altitude intermittente et performance aérobie

Les 2 principaux facteurs de la performance aérobie qui sont spécifiquement améliorés dans le groupe HYP de notre étude sont $\dot{V}O_{2\max}$ et T_{lim} réalisé à la $v\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement. Ces 2 adaptations sont considérées comme déterminantes de la capacité de performance aérobie (Billat & Koralsztein, 1996), laquelle n'a toutefois pas été mesurée directement ici. En effet, pour des raisons pratiques, aucun test de performance proprement dit sur le terrain (ex: 3000 m de course) n'a été effectué par les athlètes et la traduction des

améliorations de $\dot{V}O_{2\max}$ et de T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ en termes de gain de performance reste donc une hypothèse à vérifier. Toutefois, l'amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$ chez les athlètes du groupe HYP témoigne d'une augmentation des débits de production d'ATP pouvant être assurés par les métabolismes aérobie à l'exercice (Lindstedt & Conley, 2001). Cette adaptation permet de diminuer la contribution des métabolismes anaérobies pour une intensité d'exercice sous-maximale donnée et pourrait également élever l'intensité (métabolique et mécanique) absolue d'exercice pour laquelle la production aérobie d'énergie doit massivement être secondée par les métabolismes anaérobies (Wasserman *et al.*, 1999). Cette dernière interprétation est en accord avec l'observation d'une augmentation spécifique de la $\dot{V}O_2$ associée à SV_2 dans le groupe HYP. Curieusement, vSV_2 et $v\dot{V}O_{2\max}$ sont améliorées après entraînement, mais pas plus après EAI dans le groupe HYP. Cette observation est due à des modifications non significatives de l'économie de course, permettant au groupe contrôle d'améliorer sa vitesse de course sans augmenter sa $\dot{V}O_2$.

En apparence, ces résultats pourraient conduire à penser qu'en terme de performance, l'EAI n'est finalement pas plus bénéfique que l'entraînement en normoxie habituel des athlètes. Toutefois, le test de T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ démontre au contraire un effet spécifique de l'EAI sur la capacité de performance des athlètes du groupe HYP et confirme la nécessité d'utiliser des tests dits d'"endurance" pour juger des effets bénéfiques d'un programme d'entraînement, en particulier après EAI (Böning, 1997). En effet, avec ce type de population déjà entraînée possédant des valeurs élevées de $\dot{V}O_{2\max}$, observer une amélioration supplémentaire de $\dot{V}O_{2\max}$ devient difficile, et les progrès envisageables sont de faible amplitude (Wenger & Bell, 1986). Par contre, la réalisation d'un test de T_{lim} procure des informations importantes sur la capacité d'un athlète à soutenir une vitesse donnée et a été démontré comme relativement reproductible chez l'athlète par deux équipes indépendantes, tant en course à pied (Billat *et al.*, 1994) que sur ergocycle (Laursen *et al.*, 2003a). L'allongement de T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ (35%) du groupe HYP après EAI est en accord avec les résultats de Vallier *et al.*, montrant une augmentation de 34% du T_{lim} à 80% de P_{max} chez des triathètes à 2 000m d'altitude après 3 semaines d'EAI (Vallier *et al.*, 1996). En terme de performance, l'allongement de 3,7 min du T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ observée dans le groupe HYP signifie que les athlètes ayant bénéficié de l'EAI sont capables de soutenir plus longtemps une même vitesse de course absolue ($v\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement). Pour des épreuves de course telles que le 3000 m qui se courent à des vitesses très proches de $v\dot{V}O_{2\max}$ (Bosquet *et al.*, 2002), cette adaptation après EAI pourrait être particulièrement bénéfique. De plus, en raison de l'allure exponentielle décroissante de la relation vitesse/ T_{lim} , l'allongement de 3,7min du T_{lim} à la $v\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement suggère que des allongements plus

importants encore auraient pu être obtenus à des vitesses de course plus faibles (Heubert *et al.*, 2003), confirmant ainsi le rôle essentiel des améliorations de Tlim à $\dot{V}O_{2\max}$ comme témoin d'un effet bénéfique de l'EAI sur la capacité de performance des athlètes.

I.1.3.. Approche intégrée de l'amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$

Les gains de $\dot{V}O_{2\max}$ (5%) observés après EAI chez les athlètes du groupe HYP confirment la possibilité d'un effet bénéfique de l'altitude couplée à l'entraînement sur le débit maximal de production aérobie d'ATP. Cette observation avait déjà été rapportée par d'autres études, soit après entraînement complet en altitude (7%) (Meeuwsen *et al.*, 2001), soit après EAI (9%) (Roels *et al.*, 2005). Dès lors, une question centrale concerne les mécanismes physiologiques à l'origine de cette observation. En accord avec les résultats observés précédemment (Terrados *et al.*, 1988; Kime *et al.*, 2003; Ventura *et al.*, 2003; Roels *et al.*, 2005 {Kime, 2003 #1035}), l'EAI n'a pas induit de modification du contenu artériel en O_2 , tel que mesuré à partir de la concentration sanguine en hémoglobine et de l'hématocrite. Dans ce contexte, l'amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$ ne peut pas être attribuée à la polyglobulie classiquement décrite après les expositions prolongées à l'altitude (Levine & Stray-Gundersen, 1997; Stray-Gundersen & Levine, 1999; Stray-Gundersen *et al.*, 2001). En se basant sur le principe de Fick appliqué à l' O_2 (Acierno, 2000), la $\dot{V}O_{2\max}$ est établie selon la formule suivante:

$$\dot{V}O_{2\max} = Da-vO_{2\max} \times \dot{Q}_{\max} = Da-vO_{2\max} \times FC_{\max} \times VES_{\max}$$

où $Da-vO_2$ est la différence artério-veineuse mesurée au niveau central et l'index max indique que les valeurs sont mesurées à $\dot{V}O_{2\max}$. Parmi ces valeurs nous n'avons pu déterminer que $\dot{V}O_{2\max}$ et FC_{\max} lors des tests maximaux effectués par les athlètes. Néanmoins, puisque FC_{\max} est inchangée après EAI dans le groupe HYP (182 ± 4 vs. 183 ± 4 bpm respectivement), le pouls d' O_2 maximal (rapport $\dot{V}O_{2\max}/FC_{\max}$) a augmenté de 6% chez les athlètes du groupe HYP. Ce paramètre correspond au produit de la $Da-vO_{2\max}$ et du VES_{\max} . Plusieurs études rapportent que le VES_{\max} est atteint bien avant l'épuisement à l'exercice, au moins sur ergocycle (Stringer *et al.*, 1997; Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Gonzalez-Alonso *et al.*, 2004; Mortensen *et al.*, 2005). En conséquence, le pouls d' O_2 maximal à l'exercice semble largement déterminé par la $Da-vO_{2\max}$. De plus, les 2 groupes expérimentaux de notre protocole se sont entraînés à FC identiques, tant en valeurs absolues (bpm) que relatives (% FC_{\max}). Puisque la pression artérielle moyenne à l'exercice de même intensité métabolique relative semble identique voire inférieure en altitude vs. normoxie (Calbet *et al.*, 2003), il est vraisemblable que le travail cardiaque ait été relativement proche, voire inférieur dans le groupe HYP vs. NOR lors des

séances contrôlées en laboratoire. Si l'on accepte ces 2 postulats, l'augmentation du pouls d'O₂ maximal observée dans le groupe HYP est probablement liée à une augmentation de la Da-vO₂max plutôt qu'à une élévation de VESmax.

Dans ce contexte, l'élévation de la Da-vO₂max indique une augmentation de l'extraction globale d'O₂ à l'exercice. Cette extraction est liée à l'activité métabolique des territoires actifs qui incluent principalement le muscle cardiaque, les muscles respiratoires et les muscles squelettiques. La FCmax et la \dot{V}_E maximales n'ont pas été modifiées par l'EAI dans le groupe HYP, suggérant une faible contribution cardiaque et ventilatoire à l'augmentation de l'extraction d'O₂. Les muscles squelettiques impliqués dans la course sont donc les principaux candidats à l'élévation de l'extraction d'O₂ après EAI. Cette possibilité est en accord avec la redistribution sanguine qui intervient à l'exercice, redirigeant près de 80% du \dot{Q} max spécifiquement vers les territoires musculaires actifs, au moins sur ergocycle (Mortensen *et al.*, 2005). Les éléments responsables de l'augmentation de $\dot{V}O_{2\max}$ dans le groupe HYP paraissent donc impliqués dans l'amélioration de l'extraction périphérique d'O₂. Contrairement à l'étude transcriptionnelle qui montre une surexpression de facteurs impliqués dans la biogénèse mitochondriale (PGC 1 α et TFAM) et le métabolisme oxydatif (CS, COX 1 et COX 4), les mesures de respiration mitochondriale pratiquées sur fibres musculaires perméabilisées *in situ*, montrent que les capacités oxydatives maximales du tissu musculaire n'ont pas été modifiées par l'EAI. \dot{V}_{\max} est inchangée après vs. avant EAI et cette observation est en accord avec l'absence d'amélioration de l'activité des enzymes oxydatifs tels que la citrate synthase. Pourtant, des travaux précédents avaient montré une relation étroite entre $\dot{V}O_{2\max}$ et capacité oxydatives musculaires, telles que mesurées par la \dot{V}_{\max} mitochondriale sur fibres perméabilisées *in situ* (Mettauer *et al.*, 2001; Zoll *et al.*, 2002). Cette contradiction suggère que les améliorations de $\dot{V}O_{2\max}$ chez les athlètes apparaissent via des mécanismes différents des sujets sédentaires, non impliqués dans les capacités oxydatives musculaires *per se*. Les facultés intrinsèques du tissu musculaire à utiliser l'O₂ ne semblent pas modifiées par l'EAI et cette propriété importante des métabolismes aérobie ne paraît pas être le facteur principal de l'amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$ observée dans le groupe HYP. Dès lors, d'autres éléments situés en amont de la mitochondrie ont pu contribuer à améliorer la disponibilité de l'O₂ aux mitochondries présentes dans le tissu musculaire, sans en modifier les facultés maximales de respiration. Une telle adaptation pourrait être le fruit d'une meilleure perfusion musculaire, liée soit à une amélioration des débits sanguins musculaires, soit à une meilleure capillarisation et/ou une réduction des inégalités de perfusion/métabolisme dans les territoires musculaires actifs à l'exercice. Ces 3 aspects ont déjà été rapportés après entraînement classique réalisé en normoxie mais n'ont pas été mesurés dans la présente étude (Shoemaker *et*

al., 1996; Kalliokoski *et al.*, 2001; Charifi *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2004). Les 2 dernières hypothèses (augmentation de la capillarisation et réduction des inégalités de perfusion/métabolisme) pourraient avoir contribué à améliorer les échanges entre le compartiment sanguin, apportant l'O₂ par convection, et les fibres musculaires, captant l'O₂ disponible par diffusion. D'autre part, la quantification des ARNm montre que le gène de la myoglobine est surexprimé spécifiquement dans le groupe HYP. En raison de son rôle dans le transport musculaire de l'O₂ (Wittenberg & Wittenberg, 2003) et de sa sensibilité à l'entraînement en altitude (Terrados *et al.*, 1990; Terrados, 1992), une augmentation de la myoglobine pourrait également représenter une voie potentielle d'amélioration de la disponibilité de l'O₂ aux mitochondries, mais reste à confirmer au niveau protéique. Dans tous les cas, le phénomène de diffusion musculaire de l'O₂, du globule rouge à la mitochondrie, apparaîtrait comme un facteur déterminant important de la $\dot{V}O_{2\max}$ chez l'athlète, tel que déjà suggéré par de nombreuses études (Roca *et al.*, 1989; Honig *et al.*, 1992; Richardson *et al.*, 1995; Hepple *et al.*, 2000; Wagner, 2000). Une amélioration de la diffusion périphérique de l'O₂ a déjà été rapportée après entraînement classique en normoxie chez l'homme (Roca *et al.*, 1992). Une interprétation possible de nos résultats suggère un effet spécifique de l'entraînement en altitude sur la diffusion périphérique de l'O₂, mais cette hypothèse reste à établir de manière plus concrète. Néanmoins, la possibilité d'adaptations plutôt musculaires que centrales après EAI semble également plausible à l'analyse des mécanismes responsables de l'allongement du Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$.

I.1.4. Approche intégrée de l'allongement du Tlim

L'allongement du Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$ (35%) est spécifique du groupe HYP après EAI. Le groupe contrôle réalisant le même entraînement entièrement en normoxie n'a pas augmenté significativement ce paramètre (11%). L'objectif de ce test étant de mesurer le temps d'épuisement à une vitesse donnée, Tlim dans notre étude a été réalisé à la même vitesse de course absolue avant et après EAI, correspondant à la $v\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement. Dès lors, le Tlim d'après entraînement n'a pas été effectué à la nouvelle $v\dot{V}O_{2\max}$, quelque soit le groupe considéré. Dans ce type de situation, les augmentations de $\dot{V}O_{2\max}$, de la $\dot{V}O_2$ à SV₂ et de leurs vitesses de course associées sont considérées comme des mécanismes importants de l'allongement du Tlim après entraînement réalisé au niveau de la mer (Billat *et al.*, 2002; Demarle *et al.*, 2003; Heubert *et al.*, 2003; Laursen *et al.*, 2003a). Ces adaptations permettent de diminuer la vitesse de course relative (% $v\dot{V}O_{2\max}$) que les athlètes doivent soutenir après

entraînement, contribuant à l'allongement du Tlim à la même vitesse de course absolue. Il semble que ce mécanisme ne s'applique pas aux athlètes du groupe HYP, chez qui l'allongement du Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$ n'est pas corrélé à l'augmentation de $\dot{V}O_{2\max}$, de la $\dot{V}O_2$ à SV_2 (tous deux en $\text{mlO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) ou de $v\dot{V}O_{2\max}$ et vSV_2 (tous deux en $\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$). Cela suggère que les améliorations du Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$ après EAI pourraient être spécifiques de l'entraînement en altitude et que la diminution de la vitesse relative de course n'est pas le seul mécanisme intervenant pour déterminer le temps d'épuisement d'un athlète à une vitesse absolue donnée. Pour autant, nos résultats ne permettent pas d'écarter totalement une contribution de l'amélioration de $\dot{V}O_{2\max}$ à l'allongement du Tlim car ces 2 adaptations apparaissent simultanément dans le groupe HYP. Toutefois, l'hypothèse d'une faible contribution de l'amélioration des métabolismes aérobie à l'allongement du Tlim suppose que celui-ci puisse apparaître sans modifications des flux d'énergie métabolique générés par les métabolismes aérobie. L'absence de modification de la cinétique de $\dot{V}O_2$ va dans ce sens. Là encore, contrairement à ce qui a été proposé après entraînement en normoxie (Demarle *et al.*, 2001), la réduction du déficit d' O_2 au début de l'exercice n'apparaît pas indispensable pour allonger le temps d'épuisement des athlètes à une vitesse de course absolue donnée. Cette possibilité a déjà été évoquée également après entraînement spécifique des muscles respiratoires chez des sujets actifs (Edwards & Cooke, 2004). En effet, les athlètes du groupe HYP allongent leur Tlim principalement par l'allongement du temps qu'il peuvent soutenir au niveau ou au-dessus de leur $\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement. Ainsi, leur capacité à soutenir un même niveau absolu de production aérobie d'énergie métabolique s'améliore après EAI et contribue à allonger le Tlim à $v\dot{V}O_{2\max}$. Une interprétation possible de ce résultat suggère que les perturbations homéostasiques cellulaires associées à leur $\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement pourraient avoir été diminuées après EAI. Dans ce cas, l'environnement cellulaire resterait compatible avec la poursuite de l'exercice sur une période plus longue après EAI, contribuant à allonger Tlim. En accord avec cette possibilité, la lactatémie mesurée à l'épuisement lors du Tlim n'est pas modifiée après EAI (avant: $7,7\pm 0,6$ vs. après: $7,2\pm 0,7$ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), malgré l'allongement du Tlim. La même observation avait également été rapportée dans l'étude d'Edwards et al. montrant un allongement du Tlim sans modification de la cinétique de $\dot{V}O_2$, ni de la lactatémie maximale (Edwards & Cooke, 2004). Toutefois, ces 3 informations ont été obtenues à l'occasion de 3 tests différents et leur interprétation doit rester prudente. Néanmoins, ces résultats indiquent collectivement un rôle potentiel d'un meilleur maintien de l'homéostasie cellulaire dans l'allongement du Tlim, en parallèle ou non, des débits de production d'ATP assurés par les métabolismes aérobie.

L'étude de la fonction mitochondriale apporte des éléments allant dans le sens d'un meilleur contrôle de la respiration mitochondriale par le système des créatine kinases après entraînement. En effet, la sensibilité des mitochondries à l'ADP cytoplasmique diminue en l'absence de créatine mais s'améliore lorsque la créatine est présente dans la chambre de respiration et donc dans le cytoplasme. Cette possibilité avait déjà été évoquée par notre équipe (Mettauer *et al.*, 2001; Zoll *et al.*, 2002; Zoll *et al.*, 2003) et par d'autres (Tonkonogi *et al.*, 1998) sur la base d'études transversales, mais jamais démontré après entraînement. Une diminution du K_{m-Cr} et une augmentation du K_{m+Cr} pourraient témoigner d'une meilleure organisation cellulaire au sein d'unités énergétiques cellulaires (UEC), constituées entre deux tubules transverses et englobant des réticulum sarcoplasmiques et des mitochondries autour d'un sarcomère (Saks *et al.*, 2004). Des études de microscopie électronique démontrent que ces UEC sont organisées en réseaux très denses de mitochondries (Appaix *et al.*, 2003; Vendelin *et al.*, 2005), les rendant moins sensibles à l'ADP externe, tel que lorsqu'il est injecté dans les chambres de respiration. Par contre, le transfert du signal énergétique de l'ADP serait assuré de manière très efficace par le système des créatine kinases cytoplasmiques et mitochondriales, nécessitant la présence de créatine. Au niveau fonctionnel, une conséquence directe de cette organisation cellulaire est une moindre perturbation de la concentration cytoplasmique en ADP pour activer les phosphorylations oxydatives, l'ADP étant directement pris en charge par le système des créatine kinases. Cette adaptation pourrait contribuer à améliorer le maintien de l'homéostasie cellulaire pour un niveau donné de $\dot{V}O_2$. L'observation d'une meilleure capacité à soutenir la $\dot{V}O_{2\max}$ d'avant entraînement après EAI dans le groupe HYP est cohérente avec cette idée. D'un point de vue théorique, ce type d'adaptation pourrait contribuer à allonger le T_{lim} des athlètes après EAI. Toutefois, la corrélation entre les modifications de T_{lim} et les changements de K_m n'est obtenue que lorsque tous les sujets de l'étude sont inclus dans l'analyse ($r = 0,74$, $p < 0,05$, $n = 15$). Par contre, lorsque l'analyse est appliquée uniquement au groupe HYP, la corrélation n'atteint pas la significativité sans doute à cause du nombre limité de sujets disponibles ($n = 7$). En conséquence, le rôle exact d'un meilleur contrôle de la respiration mitochondriale par le système des créatine kinases dans l'allongement du T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$ après EAI chez des athlètes, reste à déterminer avec exactitude, surtout que l'analyse transcriptionnelle n'apporte pas d'information concernant ce point précis.

En parallèle de la fonction mitochondriale *per se*, un meilleur maintien de l'homéostasie cellulaire dans le groupe HYP est suggéré par l'absence de modification de la lactatémie mesurée à l'épuisement lors du T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$, malgré l'allongement important de la durée d'effort (3,7 min). Pourtant, puisque la cinétique de $\dot{V}O_2$ est inchangée après EAI, la contribution des

métabolismes anaérobies à la fourniture énergétique est probablement restée identique, voire augmentée après EAI. En effet, la contribution des métabolismes anaérobies et plus particulièrement de la glycolyse anaérobie est loin d'être négligeable sur ce type d'exercice, pouvant représenter près de 15% de l'énergie métabolique totale dépensée (Faina *et al.*, 1997). L'observation d'une surexpression du gène codant pour GLUT4 (transporteur transmembranaire de glucose) dans le groupe HYP spécifiquement, couplée à la corrélation significative obtenue entre le niveau des ARNm codant pour GLUT4 et le Tlim suggère que cette hypothèse est plausible, bien que restant à vérifier. Néanmoins, cette participation anaérobie à la fourniture énergétique lors du Tlim semble mieux tolérée. En effet, la lactatémie inchangée à l'épuisement indique soit une accumulation ralentie de lactates plasmatiques, voire musculaires, soit une meilleure tolérance d'un même niveau de lactatémie. Ce type d'adaptation a pu être généré par une amélioration des capacités d'échange et/ou d'oxydation du lactate, tel que suggéré par l'existence d'une étroite corrélation entre le Tlim à $\dot{v}O_{2\max}$ sur ergocycle et les capacités d'échange et d'oxydation du lactate chez des sujets sédentaires (Messonnier *et al.*, 2002). Au niveau des ARNm, l'augmentation des ARNm codant pour MCT1 est en accord avec cette hypothèse, puisque MCT1 représente une voie importante du transport transmembranaire du lactate, de manière simultanée avec les ions H^+ . Si cette observation s'avère réelle au niveau protéique (ce que nous n'avons pas mesuré), un meilleur contrôle du pH cellulaire serait induit par l'EAI, favorisant l'allongement du Tlim à $\dot{v}O_{2\max}$. La corrélation significative observée entre le niveau d'ARNm codant pour MCT 1 et le Tlim dans le groupe HYP est en accord avec cette hypothèse. La surexpression du gène codant pour l'anhydrase carbonique 3 (AC3) tend également à indiquer que cet enzyme pourrait avoir contribué à l'allongement du Tlim. En effet, AC3 participe au tamponnage des ions H^+ par les ions HCO_3^- pour former de l'eau et du CO_2 , lequel peut alors diffuser librement en dehors de la cellule musculaire (Geers & Gros, 2000). La concrétisation protéique de l'AC3 pourrait minimiser la baisse du pH qui accompagne l'exercice intense et favoriser l'allongement du Tlim dans le groupe HYP. Là aussi, la corrélation observée entre le niveau d'ARNm codant pour l'AC3 et le Tlim dans le groupe HYP indique que cette hypothèse paraît plausible, bien que restant à vérifier.

I.2. L'ergocycle excentrique comme modèle de stimulation mécanique

La deuxième partie de ce travail avait pour objectif de caractériser les effets aigus des stimuli mécaniques sur les ajustements circulatoires à l'exercice chez l'homme, et constitue une étape préliminaire à l'étude de leurs effets chroniques chez l'athlète en vue d'améliorer la capacité de performance aérobie.

La spécificité circulatoire du pédalage EXC modifie la relation FC/ $\dot{V}O_2$ observée lors du pédalage CON traditionnel, et donc l'interprétation de la FC en tant que marqueur de l'intensité métabolique ($\dot{V}O_2$ ou % $\dot{V}O_{2\max}$) de l'exercice. Les études ayant évalué les effets d'un programme d'entraînement à base d'ergocycle EXC vs. CON classique, n'ont pour l'instant jamais pris cet aspect en considération (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000; Meyer *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2004). Les groupes expérimentaux inclus dans ces études s'entraînaient à même % de FCmax, considéré comme un moyen d'égaliser l'intensité métabolique de l'exercice, en dépit des différences d'actions musculaires. A la vue des résultats présentés plus haut, cette procédure n'apparaît pas valable, et l'utilisation de l'ergocycle excentrique comme modèle expérimental spécifique de stimulation mécanique, implique de pouvoir précisément quantifier les stimuli métaboliques générés par l'exercice ou la période d'entraînement étudiée. Notre contribution propose la réalisation d'une épreuve d'effort progressive en pédalage EXC, afin d'établir la relation FC/ $\dot{V}O_2$ spécifique du pédalage EXC. Ces informations sont essentielles pour optimiser la gestion des intensités d'exercice des futurs programmes d'entraînement à base d'ergocycle EXC. Ce type d'épreuve apparaît facilement réalisable, et bien toléré par les sujets, à la condition qu'une période d'habituation au pédalage EXC soit respectée avant la réalisation de l'épreuve. A ce sujet, 4 séances de pédalage EXC de 10 min, dont la dernière est effectuée à 200 W semblent suffisantes pour exercer un effet musculaire protecteur face aux dommages habituellement rapportés après exercice EXC (destruction des lignes Z, rupture de fibres musculaires, inflammation, douleurs musculaires retardées et pertes de force), et ce, au moins jusqu'à des puissances mécaniques EXC proches de 300 W.

En moyenne, nous observons que la FC doit être d'environ 15 bpm soit 17% plus élevée en pédalage EXC vs. CON, pour générer la même $\dot{V}O_2$ d'environ 1 L·min⁻¹ à l'exercice. De plus, une variabilité interindividuelle importante (CV=30%), semble caractériser cette correspondance de FC, renforçant la nécessité de l'établir sur une base individuelle. A ce niveau de $\dot{V}O_2$, les puissances mécaniques développées sont de 50 W en CON, et 250±21 W en EXC. La correspondance de FC pour des valeurs de $\dot{V}O_2$ plus élevées que 1 L·min⁻¹ n'a pas pu être obtenue à partir de notre protocole, car la puissance mécanique maximale atteinte en EXC était limitée à $p\dot{V}O_{2\max}$ de l'épreuve progressive CON. Néanmoins, il est vraisemblable que la

différence de FC à respecter pour obtenir des intensités métaboliques similaires, mais supérieures à $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ dans les 2 modes d'exercice, soit plus élevée en termes absolus (bpm). Dès lors, la méthodologie utilisée dans notre étude procure une première évaluation d'avant entraînement, permettant de paramétrer les intensités d'exercice à utiliser dans les toutes premières séances d'un programme d'entraînement EXC. Etant donné que les puissances mécaniques utilisées à l'entraînement en ergocycle EXC augmentent rapidement en début de programme, pour atteindre des valeurs supérieures à 250 W après 3-4 semaines chez le sédentaire (Lastayo *et al.*, 1999; Lastayo *et al.*, 2000) et chez l'insuffisant cardiaque (Steiner *et al.*, 2004) (donc a fortiori chez l'athlète), il paraît nécessaire de réévaluer rapidement la relation $\text{FC}/\dot{V}\text{O}_2$ à des puissances mécaniques supérieures à 250 W en cours d'entraînement.

La spécificité métabolique du pédalage excentrique (EXC), caractérisée par un faible coût énergétique (Abbott *et al.*, 1952; Asmussen, 1952; Bigland-Ritchie & Woods, 1976), est donc doublée d'une spécificité circulatoire, engendrant une réponse de \dot{Q} et de FC supérieure au pédalage classique concentrique (CON) réalisé à même $\dot{V}\text{O}_2$ (Knuttgen *et al.*, 1971; Thomson, 1971). Cette dernière propriété semble particulièrement manifeste lorsque la $\dot{V}\text{O}_2$ absolue approche $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, et que la puissance mécanique est environ 4-5 fois supérieure en EXC vs. CON (Knuttgen *et al.*, 1971; Thomson, 1971). En manipulant la fréquence de pédalage à puissance mécanique constante, Lichtneckert *et al.* démontrent que "l'excès" d'activation de la circulation en pédalage EXC est principalement lié au niveau de tension musculaire imposé par le pédalage EXC (Lichtneckert *et al.*, 1971). A même $\dot{V}\text{O}_2$, l'activité musculaire globale mesurée par électromyographie de surface est également supérieure (Bigland-Ritchie & Woods, 1976). Dans ce contexte, les mécanismes précis à l'origine de la réponse circulatoire spécifique à l'ergocycle EXC, bien qu'encore obscurs, pourraient impliquer le niveau de tension musculaire *per se*, en activant les voies réflexes afférentes mécano-dépendantes, transitant via les fibres nerveuses III et IV, et/ou le contrôle central de la force musculaire nécessaire pour développer des puissances mécaniques élevées. La sensibilité des ajustements circulatoires aux stimuli mécaniques générés par l'exercice, a été estimée dans notre dernière étude, où l'ergocycle EXC est utilisé comme un modèle expérimental permettant d'induire une stimulation mécanique spécifique. Ainsi, les stimuli mécaniques semblent réguler environ 25% de la réponse de \dot{Q} et 34% de la réponse de FC observées lors d'une transition de pédalage CON classique à haute intensité, caractérisée par 200 W d'incrément de puissance mécanique pour $2,4 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ de $\dot{V}\text{O}_2$. Ce résultat, non seulement confirme que l'essentiel des ajustements circulatoires à l'exercice est établi en réponse aux stimuli métaboliques *per se* (75% pour le \dot{Q} et 66% pour la FC) mais

également indique que les stimuli mécaniques *per se* sont responsables d'une partie importante de la réponse de \dot{Q} , principalement obtenue via leur effet sur la FC.

La tension musculaire générée par l'exercice a déjà été évoquée comme un stimulus puissant à l'exercice, capable d'engendrer une augmentation réflexe de la FC. Ainsi, chez l'homme, des mouvements de pédalage passifs engendrent une augmentation réflexe de la FC et du \dot{Q} de manière mécano-dépendante (Nobrega *et al.*, 1994). D'autres travaux indiquent également un rôle de la tension musculaire comme un déterminant important de la réponse cardiaque à l'exercice, potentiellement obtenu via une modification du contrôle nerveux cardiaque (Williamson *et al.*, 1995; Nurhayati & Boutcher, 1998). Chez le chat, il a été montré que les tensions musculaires pouvaient élever l'activité sympathique post-ganglionnaire de manière réflexe, et contribuer aux ajustements circulatoires (Matsukawa *et al.*, 2001). Plus précisément, l'étirement musculaire chez le chat peut augmenter l'activité sympathique efférente au niveau cardiaque (Matsukawa *et al.*, 1994), et engendrer la moitié de la réponse de FC observée lors d'une contraction isométrique de même niveau de tension (Stebbins *et al.*, 1988). Ce dernier résultat est en accord avec notre estimation du rôle important des stimuli mécaniques *per se* dans les ajustements circulatoires, lors d'exercices dynamiques chez l'homme. Toutefois, la contribution exacte de cette régulation réflexe afférente de l'activité cardiaque aux ajustements circulatoires, ne peut pas être définitivement établie à partir de nos résultats, et la possibilité d'une intervention d'origine centrale à ces ajustements doit également être considérée.

En effet, nous avons observé que l'activité EMG des muscles impliqués dans le pédalage est étroitement liée aux réponses de \dot{Q} et de FC observées à l'exercice, quel que soit le mode d'action musculaire (EXC vs. CON). Tout semble donc se passer comme si les stimuli métaboliques et mécaniques étaient intégrés dans la commande motrice envoyée aux muscles actifs et que, simultanément, cette commande motrice servait de base à la mise en place des ajustements circulatoires. L'augmentation de l'activité EMG mesurée dans notre étude, représente une augmentation du nombre d'unités motrices actives et/ou de leur fréquence de décharge. Toutefois, pour les exercices inférieurs à $p\dot{V}O_{2\max}$, il a été proposé que l'activité EMG augmentait principalement sous l'effet du recrutement musculaire (augmentation du nombre de fibres actives) (Green & Patla, 1992). Dans ce cas, la réponse circulatoire à l'exercice serait calquée sur la masse musculaire active, et cette possibilité a déjà été évoquée précédemment (McCloskey & Mitchell, 1972; Blomqvist *et al.*, 1981). Le concept d'une commande centrale des ajustements circulatoires à l'exercice est en accord avec cette hypothèse (Rowell *et al.*, 1996), mais les mécanismes précis de sa mise en œuvre restent à explorer.

CHAPITRE II : PERSPECTIVES DE TRAVAIL

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse posent un certain nombre de questions, appelant des études supplémentaires. Loin de vouloir les décrire ici dans les détails, les paragraphes qui suivent exposent succinctement les questionnements qui se sont imposés à nous à la lumière de nos résultats, et esquissent les principales perspectives de travail, dans la continuité des travaux entrepris ici.

II.1. Entraînement en altitude intermittente et performance aérobie

II.1.1. Effet sur la performance aérobie et optimisation des protocoles

L'utilisation intermittente de l'altitude, qui a été étudiée dans le cadre de ce travail de thèse constitue une approche expérimentale pour laquelle nous avons peu de recul, particulièrement chez l'athlète. En effet, les effets d'une utilisation aussi modérée de l'altitude à l'exercice (jamais plus de 80 min/sem lors d'exercices de 12 à 20 min) n'avaient jamais été rapportés auparavant, et les adaptations observées en font une modalité d'utilisation de l'altitude prometteuse. Néanmoins, en raison de l'intérêt potentiel qu'elle procure pour les athlètes désireux d'améliorer leur performance aérobie, des études complémentaires sont nécessaires pour en confirmer les résultats sur un plus grand échantillon, et également pour en vérifier l'impact réel sur la performance. En effet, pour des raisons pratiques, nous n'avons pas inclus de test de performance dans le protocole expérimental de notre étude, et les effets que nous avons décrits sur les principaux facteurs de la performance ($\dot{V}O_{2\max}$, SV_2 et leurs vitesses associées ainsi que l'économie de course, la cinétique de $\dot{V}O_2$ et la T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$) ne permettent toutefois pas de déterminer avec précision l'amélioration de performance qui aurait été observée sur une épreuve de 3000 ou 5000 m par exemple. Cet aspect représente sans doute une des informations essentielles qui manquent à notre étude en terme d'effet sur la performance. D'autre part, l'utilisation de vSV_2 pour des durées d'exercice comprises entre 12 et 20 min, 2 fois par semaine, semble suffisante pour bénéficier des effets favorables de l'entraînement en altitude, sans que les athlètes ne souffrent des problèmes traditionnellement associés aux expositions prolongées à l'altitude (baisse de l'immunité, perturbation du sommeil, baisse de la charge d'entraînement). Toutefois, ce type de protocole, certes efficace, n'est peut être pas le plus optimal pour améliorer la performance, et des altitudes plus élevées et/ou des combinaisons différentes de durée/intensité d'exercice lors des séances en altitude, pourraient montrer des effets supérieurs en

termes de stimuli métaboliques, d'adaptations induites et de gains de performance pour les athlètes.

II.1.2. Des adaptations musculaires périphériques à préciser

Nos résultats au niveau systémique mettent en évidence que l'entraînement en altitude intermittente mené chez l'athlète n'induit, pas de modification du contenu artériel en O₂, et améliore $\dot{V}O_{2\max}$ par des mécanismes plus périphériques musculaires (liés à l'extraction d'O₂) que centraux (liés aux capacités de transport de l'O₂). Les mesures que nous avons réalisées ne permettent pas d'identifier clairement les mécanismes à l'origine de l'amélioration de l'extraction d'O₂ au niveau musculaire. En effet, les tests d'effort que nous avons pratiqués sur tapis roulant ne sont pas compatibles avec l'étude des débits sanguins musculaires et la détermination des contenus en O₂ dans les compartiments sanguins artériel et veineux. Pourtant, ce type de mesures aurait sans doute apporté un nouvel éclairage à nos observations. Dès lors, il paraît intéressant que les futurs protocoles d'entraînement en altitude intermittente comblient cette lacune, par exemple en incluant des tests d'effort sur ergocycle, pendant lesquels la présence des cathéters nécessaires (artère fémorale et veine fémorale) reste compatible avec la réalisation d'exercices maximaux. Tant que ce type d'étude n'aura pas été mené, les rôles respectifs du débit sanguin musculaire et des capacités de diffusion musculaire resteront obscurs.

A un niveau plus microscopique, nos résultats auraient été avantageusement complétés par une analyse fine de la structure musculaire, permettant d'avoir accès à la compartimentation cellulaire. Ce type d'étude utilise entre autres techniques, la microscopie électronique ou confocale, et permet de déterminer la localisation exacte des capillaires, mais également des éléments intracellulaires, tels que les mitochondries et leur éventuelle organisation au sein des unités énergétiques cellulaires (Andrienko *et al.*, 2003; Appaix *et al.*, 2003; Saks *et al.*, 2004; Vendelin *et al.*, 2005). Concernant la capillarisation et la localisation des mitochondries, des études ont déjà rapporté un réel effet de la modalité "Vivre en bas – S'entraîner en haut", cohérent avec l'idée d'une réorganisation cellulaire qui facilite le transport de l'O₂ à la mitochondrie (Geiser *et al.*, 2001; Vogt *et al.*, 2001). De plus, l'approfondissement de l'hypothèse des unités énergétiques cellulaires aurait également permis de renforcer l'interprétation des modifications de la sensibilité de la respiration mitochondriale après entraînement en altitude intermittente, et surtout son impact en terme de performance. A ce sujet, nos travaux suggèrent à plusieurs reprises un meilleur maintien de l'homéostasie cellulaire à l'exercice, avec un rôle potentiellement important des transporteurs membranaires d'ions H⁺ et de

lactates (MCT 1), de glucose (GLUT 4) voire d'enzymes impliqués dans le contrôle du statut acido-basique cellulaire (AC). Cette possibilité a été essentiellement obtenue sur la base d'observations indirectes, incluant des adaptations transcriptionnelles, qu'il serait très instructif de vérifier via des analyses fonctionnelles. En effet, la concrétisation au niveau protéique des résultats observés au niveau transcriptionnel, reste une inconnue majeure, non seulement dans notre étude mais également dans la littérature scientifique. Pourtant, ce type d'information est essentiel pour mieux comprendre comment les stimuli métaboliques, imposés à l'athlète par l'entraînement, se traduisent en réponses adaptatives appropriées, visant à améliorer le fonctionnement des systèmes physiologiques impliqués notamment dans la production d'énergie métabolique. L'entraînement en altitude intermittente apparaît comme un bon modèle spécifique de stimulation métabolique afin d'approfondir ces aspects, et également d'améliorer la capacité de performance aérobie.

II.2. L'exercice de pédalage excentrique : un vaste champ expérimental

II.2.2. Ergocycle excentrique et performance aérobie

Ce travail de thèse constitue une étape préliminaire à l'étude des effets d'une augmentation spécifique des stimuli mécaniques sur la capacité de performance aérobie, via l'utilisation de l'ergocycle excentrique. Une des grandes questions qui restent pour l'heure sans réponses à l'issue de ce travail concerne en effet l'impact d'un programme d'entraînement où les stimuli mécaniques seraient spécifiquement élevés, sur la performance aérobie d'athlètes entraînés. D'un point de vue théorique, développé dans la première partie de notre travail, ce type de programme pourrait démontrer un effet bénéfique pour la performance aérobie, notamment via une modification des caractéristiques mécaniques musculaires et/ou un meilleur contrôle nerveux de la génération de force musculaire. Ces adaptations pourraient alors se traduire par une amélioration du coût énergétique, lequel est considéré comme un facteur déterminant important de la capacité de performance en endurance. Dans ce contexte, il est très "frustrant" de n'avoir pas pu vérifier cette hypothèse dans le cadre de ce travail, et des travaux futurs devraient se charger de combler cette lacune.

Bien que notre réflexion soit orientée vers l'amélioration de la performance aérobie des athlètes entraînés, nos résultats pourraient également avoir des applications cliniques, notamment dans le cadre d'un réentraînement à l'effort de patients très déconditionnés. En effet, la possibilité de manipuler les stimuli métaboliques et mécaniques des programmes de réhabilitation, pourrait

être adaptée aux handicaps spécifiques des patients, dans le but d'améliorer leurs capacités à l'exercice et leur rendre une partie de leur autonomie. Cette idée commence à faire son chemin concernant l'utilisation de l'ergocycle excentrique, notamment pour les patients coronariens (Meyer *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2004) et broncho-pneumopathes chroniques obstructifs (Rooyackers *et al.*, 2003), mais également pour les sujets âgés atteints de sarcopénie (Lastayo *et al.*, 2002; LaStayo *et al.*, 2003a). Les travaux présentés dans le cadre de notre travail apportent des informations visant à en améliorer la mise en œuvre. L'utilisation de l'altitude intermittente à l'exercice pourrait également être proposée aux patients participant à des programmes de reconditionnement physique. En plus de son effet bénéfique sur la capacité à l'exercice, l'entraînement en altitude intermittente pourrait également exercer un effet cardioprotecteur, en réduisant la pression artérielle systolique à l'exercice maximal ainsi que la concentration plasmatique en homocystéine (Bailey *et al.*, 2000). En raison de ces effets délétères sur les plaquettes, les facteurs thrombotiques et l'endothélium vasculaire, la concentration plasmatique en homocystéine est étroitement corrélée à la mortalité chez les patients coronariens (Refsum *et al.*, 1998). Dans ce contexte, les bénéfices potentiels de l'entraînement en altitude intermittente en clinique mériteraient clairement d'être étudiés, comme un adjuvant aux programmes de réhabilitation habituellement proposés aux patients déconditionnés, dès lors que leur innocuité aura été vérifiée en fonction de la pathologie considérée.

II.2.1. Ergocycle excentrique comme modèle expérimental

Au delà de son intérêt potentiel pour améliorer la capacité de performance aérobie des athlètes, l'ergocycle excentrique apparaît comme un modèle expérimental intéressant, permettant de majorer les stimuli mécaniques habituellement développés à l'exercice pour un même niveau de stimulation métabolique. A ce titre, de nombreuses perspectives d'utilisations scientifiques de l'ergocycle excentrique comme modèle expérimental spécifique de stimulation mécanique, peuvent être imaginées. Toutefois, à l'issue de ce travail de thèse, 2 questions principales demandent à être clairement élucidées.

Nos travaux mettent en évidence le rôle des stimuli mécaniques dans les ajustements circulatoires à l'exercice, lesquels ont la capacité d'augmenter le \dot{Q} et la FC pour un même niveau de $\dot{V}O_2$, et contribuent également à environ 25 et 34% des réponses de \dot{Q} et de FC observées lors d'un exercice intense. Les mécanismes précis permettant aux stimuli mécaniques de générer ces réponses circulatoires ne sont pas établis, mais pourraient impliquer une composante réflexe afférente mécano-dépendante et/ou centrale corticale. Une des approches

envisageables pour répondre à cette question consisterait à trouver une situation permettant de minimiser la composante réflexe, et de vérifier si les ajustements circulatoires en réponse aux stimuli mécaniques sont modifiés. Une telle situation pourrait être obtenue via l'utilisation d'anesthésie épidurale partielle, limitant les communications nerveuses afférentes en provenance des muscles actifs. Ce type d'approche a déjà été utilisé par le passé dans des investigations visant à étudier les régulations cardiovasculaires à l'exercice (Gallagher *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2003) et permettrait de vérifier la contribution réflexe aux ajustements circulatoires observés en réponse aux stimuli mécaniques.

D'autre part, l'activation de la circulation observée sous l'effet des stimuli mécaniques lors du pédalage excentrique, provoque une situation où le \dot{Q} et la FC sont mis en jeu en relatif excès des besoins métaboliques. En conséquence, la différence artério-veineuse en O_2 estimée est diminuée. Toutefois, une interrogation demeure quant à la destination musculaire ou non de cet excès de débit sanguin au niveau central. Cet apport sanguin supplémentaire est-il dirigé vers les territoires musculaires ou vers d'autres territoires à des fins non énergétiques? Pour l'heure, une seule étude semble s'être indirectement intéressée à cette question, et rapporte que le débit sanguin musculaire mesuré lors d'un exercice d'extension du genou est plus faible en mode excentrique vs. concentrique à même puissance mécanique (Ball *et al.*, 2002). Malheureusement, l'interprétation des données à même puissance métabolique est difficile dans cette publication et la question reste donc ouverte. La mesure du débit sanguin musculaire à l'exercice de pédalage EXC vs. CON, couplée à la détermination des contenus sanguins en O_2 dans les compartiments artériels et veineux, permettrait d'obtenir des informations cruciales sur la destination et les origines de l'excès de débit sanguin que nous avons observé au niveau central.

CONCLUSION GENERALE

Deux approches expérimentales nouvelles ont été développées dans le cadre de ce travail, visant à manipuler spécifiquement les stimuli métaboliques et les stimuli mécaniques générés par l'exercice, dans l'objectif ultime de déterminer leur intérêt respectif pour améliorer la performance aérobie chez l'athlète. L'entraînement en altitude intermittente a été exploré comme modèle expérimental permettant de majorer les stimuli métaboliques de l'entraînement sans en perturber les stimuli mécaniques. En utilisant une approche intégrée, un effet bénéfique de ce type d'approche a été observé sur des facteurs déterminants importants de la performance (tels que $\dot{V}O_{2\max}$ et T_{lim} à $v\dot{V}O_{2\max}$), et sur la fonction mitochondriale, lequel peut également être caractérisé par une "signature" transcriptionnelle spécifique. L'ergocycle excentrique permet de générer des stimuli mécaniques élevés tout en minimisant les stimuli métaboliques. Les travaux menés dans le cadre de cette thèse se sont attachés à en préciser la mise en oeuvre en tant que modèle expérimental de stimulation mécanique. L'influence des stimuli mécaniques à l'exercice aigu a été caractérisée sur les ajustements circulatoires, et démontre qu'ils peuvent être considérés comme de puissants signaux physiologiques. Une prochaine étape consiste à en déterminer les effets bénéfiques à l'entraînement, notamment sur la performance aérobie des athlètes.

L'association de techniques expérimentales, à la fois systémiques, cellulaires et moléculaires, permet d'entrevoir les réponses de l'organisme à l'exercice chronique comme un ensemble étroitement coordonné d'adaptations établies pour améliorer la tolérance aux stimuli perçus. Ce nouveau regard fait appel à des disciplines scientifiques différentes, mais complémentaires, permettant d'améliorer la compréhension des adaptations de l'organisme à l'exercice et à l'entraînement. Les collaborations et échanges scientifiques générés par ces approches expérimentales sont riches d'enseignements, et possèdent l'avantage d'exercer leurs propres "stimuli scientifiques". L'identification des limites de la performance humaine, et des voies qui mènent à son amélioration après entraînement, constitue plus que jamais un immense défi scientifique qui reste à relever. Cette tâche va nécessiter encore beaucoup d'énergie (tant métabolique que mécanique!), de l'enthousiasme et certainement un petit grain de folie. Tel que proposé par K.H. Myburgh, ces "qualités" devront être partagées entre les futurs collaborateurs d'horizons disciplinaires jusqu'à présent rarement associés, si l'on veut un jour réussir à approcher la solution de son énigme:

«What makes an endurance athlete world-class? Not simply a physiological conundrum!»

(K.H. Myburgh, *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2003)

BIBLIOGRAPHIE

- Abbott BC & Bigland B. (1953). The effects of force and speed changes on the rates of oxygen consumption during negative work. *J Physiol* **120**, 319-325.
- Abbott BC, Bigland B & Ritchie JM. (1952). The physiological cost of negative work. *J Physiol* **117**, 380-390.
- Achten J & Jeukendrup AE. (2003). Heart rate monitoring: applications and limitations. *Sports Med* **33**, 517-538.
- Acierno LJ. (2000). Adolph Fick: mathematician, physicist, physiologist. *Clin Cardiol* **23**, 390-391.
- Adams RP & Welch HG. (1980). Oxygen uptake, acid-base status, and performance with varied inspired oxygen fractions. *J Appl Physiol* **49**, 863-868.
- Adams WC, Bernauer EM, Dill DB & Bomar JB, Jr. (1975). Effects of equivalent sea-level and altitude training on VO₂max and running performance. *J Appl Physiol* **39**, 262-266.
- Almasbakk B & Hoff J. (1996). Coordination, the determinant of velocity specificity? *J Appl Physiol* **81**, 2046-2052.
- Alway SE, Grumbt WH, Gonyea WJ & Stray-Gundersen J. (1989). Contrasts in muscle and myofibers of elite male and female bodybuilders. *J Appl Physiol* **67**, 24-31.
- Andersen P & Saltin B. (1985). Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* **366**, 233-249.
- Andrienko T, Kuznetsov AV, Kaambre T, Usson Y, Orosco A, Appaix F, Tiivel T, Sikk P, Vendelin M, Margreiter R & Saks VA. (2003). Metabolic consequences of functional complexes of mitochondria, myofibrils and sarcoplasmic reticulum in muscle cells. *J Exp Biol* **206**, 2059-2072.
- Anrep GV & von Saafeld E. (1935). The blood flow through the skeletal muscle in relation to its contraction. *J Physiol* **24**, 375-399.
- Appaix F, Kuznetsov AV, Usson Y, Kay L, Andrienko T, Olivares J, Kaambre T, Sikk P, Margreiter R & Saks V. (2003). Possible role of cytoskeleton in intracellular arrangement and regulation of mitochondria. *Exp Physiol* **88**, 175-190.
- Armstrong RB. (1984). Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* **16**, 529-538.
- Ashenden MJ, Gore CJ, Dobson GP & Hahn AG. (1999a). "Live high, train low" does not change the total haemoglobin mass of male endurance athletes sleeping at a simulated altitude of 3000 m for 23 nights. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **80**, 479-484.
- Ashenden MJ, Gore CJ, Martin DT, Dobson GP & Hahn AG. (1999b). Effects of a 12-day "live high, train low" camp on reticulocyte production and haemoglobin mass in elite female road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **80**, 472-478.
- Asmussen E. (1952). Positive and negative muscular work. *Acta Physiol Scand* **28**, 364-382.

- Astrand PO, Cuddy TE, Saltin B & Stenberg J. (1964). Cardiac output during submaximal and maximal work. *J Appl Physiol* **19**, 268-274.
- Audran M, Gareau R, Matecki S, Durand F, Chenard C, Sicart MT, Marion B & Bressolle F. (1999). Effects of erythropoietin administration in training athletes and possible indirect detection in doping control. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 639-645.
- Avogadro P, Dolenc A & Belli A. (2003). Changes in mechanical work during severe exhausting running. *Eur J Appl Physiol* **90**, 165-170.
- Bailey DM, Davies B & Baker J. (2000). Training in hypoxia: modulation of metabolic and cardiovascular risk factors in men. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 1058-1066.
- Bailey DM, Davies B, Romer L, Castell L, Newsholme E & Gandy G. (1998). Implications of moderate altitude training for sea-level endurance in elite distance runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **78**, 360-368.
- Bailey DM, Davies B & Young IS. (2001). Intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci (Lond)* **101**, 465-475.
- Ball D, Fordy G, Dawson E & George KP. (2002). The influence of mode of muscle contraction on muscle blood flow in man. In *Proceedings of the Physiological Society*, pp. S114. The Physiological Society, Liverpool.
- Ballard RE, Watenpaugh DE, Breit GA, Murthy G, Holley DC & Hargens AR. (1998). Leg intramuscular pressures during locomotion in humans. *J Appl Physiol* **84**, 1976-1981.
- Bangsbo J, Krstrup P, Gonzalez-Alonso J & Saltin B. (2001). ATP production and efficiency of human skeletal muscle during intense exercise: effect of previous exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**, E956-964.
- Banister EW, Carter JB & Zarkadas PC. (1999). Training theory and taper: validation in triathlon athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **79**, 182-191.
- Baron R. (2001). Aerobic and anaerobic power characteristics of off-road cyclists. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 1387-1393.
- Barstow TJ, Lutjemeier BJ & Ferreira LF. (2005). Kinetics of restoration of arteriolar tone after exercise. *J Appl Physiol* **99**, 775.
- Bassett DR, Jr. (2002). Scientific contributions of A. V. Hill: exercise physiology pioneer. *J Appl Physiol* **93**, 1567-1582.
- Bassett DR, Jr. & Howley ET. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 70-84.
- Bastiaans JJ, van Diemen AB, Veneberg T & Jeukendrup AE. (2001). The effects of replacing a portion of endurance training by explosive strength training on performance in trained cyclists. *Eur J Appl Physiol* **86**, 79-84.

- Baum K, Selle K, Leyk D & Essfeld D. (1995). Comparison of blood pressure and heart rate responses to isometric exercise and passive muscle stretch in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **70**, 240-245.
- Bell GJ, Petersen SR, Quinney HA & Wenger HA. (1989). The effect of velocity-specific strength training on peak torque and anaerobic rowing power. *J Sports Sci* **7**, 205-214.
- Benoit H, Germain M, Barthelemy JC, Denis C, Castells J, Dormois D, Lacour JR & Geysant A. (1992). Pre-acclimatization to high altitude using exercise with normobaric hypoxic gas mixtures. *Int J Sports Med* **13 Suppl 1**, S213-216.
- Bentley DJ, McNaughton LR, Thompson D, Vleck VE & Batterham AM. (2001). Peak power output, the lactate threshold, and time trial performance in cyclists. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 2077-2081.
- Bentley DJ, Wilson GJ, Davie AJ & Zhou S. (1998). Correlations between peak power output, muscular strength and cycle time trial performance in triathletes. *J Sports Med Phys Fitness* **38**, 201-207.
- Berchtold MW, Brinkmeier H & Muntener M. (2000). Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiol Rev* **80**, 1215-1265.
- Berg BR, Cohen KD & Sarelius IH. (1997). Direct coupling between blood flow and metabolism at the capillary level in striated muscle. *Am J Physiol* **272**, H2693-2700.
- Bergeron R, Ren JM, Cadman KS, Moore IK, Perret P, Pypaert M, Young LH, Semenkovich CF & Shulman GI. (2001). Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **281**, E1340-1346.
- Bergstrom J. (1962). Muscle electrolytes in humans. *Scand J Clin Lab Invest* **14**, 11-12.
- Bertucci W, Duc S, Villerius V & Grappe F. (2005). Validity and reliability of the Axiom PowerTrain cycle ergometer when compared with an SRM powermeter. *Int J Sports Med* **26**, 59-65.
- Bigland-Ritchie B & Woods JJ. (1976). Integrated electromyogram and oxygen uptake during positive and negative work. *J Physiol* **260**, 267-277.
- Billat LV. (2003). *Physiologie et méthodologie de l'entraînement : de la théorie à la pratique*. DeBoeck Université, Paris.
- Billat LV & Koralsztein JP. (1996). Significance of the velocity at VO₂max and time to exhaustion at this velocity. *Sports Med* **22**, 90-108.
- Billat V, Faina M, Sardella F, Marini C, Fanton F, Lupo S, Faccini P, de Angelis M, Koralsztein JP & Dalmonte A. (1996a). A comparison of time to exhaustion at VO₂ max in elite cyclists, kayak paddlers, swimmers and runners. *Ergonomics* **39**, 267-277.
- Billat V, Lepretre PM, Heugas AM, Laurence MH, Salim D & Koralsztein JP. (2003a). Training and Bioenergetic Characteristics in Elite Male and Female Kenyan Runners. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 297-304.

- Billat V, Renoux JC, Pinoteau J, Petit B & Koralsztein JP. (1994). Reproducibility of running time to exhaustion at VO₂max in subelite runners. *Med Sci Sports Exerc* **26**, 254-257.
- Billat VL. (2000). VO₂ slow component and performance in endurance sports. *Br J Sports Med* **34**, 83-85.
- Billat VL, Blondel N & Berthoin S. (1999). Determination of the velocity associated with the longest time to exhaustion at maximal oxygen uptake. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **80**, 159-161.
- Billat VL, Demarle A, Slawinski J, Paiva M & Koralsztein JP. (2001a). Physical and training characteristics of top-class marathon runners. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 2089-2097.
- Billat VL, Hill DW, Pinoteau J, Petit B & Koralsztein JP. (1996b). Effect of protocol on determination of velocity at VO₂ max and on its time to exhaustion. *Arch Physiol Biochem* **104**, 313-321.
- Billat VL, Mille-Hamard L, Demarle A & Koralsztein JP. (2002). Effect of training in humans on off- and on-transient oxygen uptake kinetics after severe exhausting intensity runs. *Eur J Appl Physiol* **87**, 496-505.
- Billat VL, Sirvent P, Py G, Koralsztein JP & Mercier J. (2003b). The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med* **33**, 407-426.
- Billat VL, Slawinski J, Bocquet V, Chassaing P, Demarle A & Koralsztein JP. (2001b). Very short (15s-15s) interval-training around the critical velocity allows middle-aged runners to maintain VO₂ max for 14 minutes. *Int J Sports Med* **22**, 201-208.
- Bishop D, Jenkins DG, Mackinnon LT, McEniery M & Carey MF. (1999). The effects of strength training on endurance performance and muscle characteristics. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 886-891.
- Blomqvist CG, Lewis SF, Taylor WF & Graham RM. (1981). Similarity of the hemodynamic responses to static and dynamic exercise of small muscle groups. *Circ Res* **48**, I87-92.
- Blomqvist CG & Saltin B. (1983). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annu Rev Physiol* **45**, 169-189.
- Bolme P & Fuxe K. (1970). Adrenergic and cholinergic nerve terminals in skeletal muscle vessels. *Acta Physiol Scand* **78**, 52-59.
- Bonde-Petersen F, Knuttgen HG & Henriksson J. (1972). Muscle metabolism during exercise with concentric and eccentric contractions. *J Appl Physiol* **33**, 792-795.
- Böning D. (1997). Altitude and hypoxia training--a short review. *Int J Sports Med* **18**, 565-570.
- Booth FW, Tseng BS, Fluck M & Carson JA. (1998). Molecular and cellular adaptation of muscle in response to physical training. *Acta Physiol Scand* **162**, 343-350.

- Borroni F, Candau R, Millet GY, Perrey S, Fuchslocher J & Rouillon JD. (2001). Is the VO₂ slow component dependent on progressive recruitment of fast-twitch fibers in trained runners? *J Appl Physiol* **90**, 2212-2220.
- Borroni F, Candau R, Perrey S, Millet GY, Millet GP & Rouillon JD. (2003). Does the mechanical work in running change during the VO₂ slow component? *Med Sci Sports Exerc* **35**, 50-57.
- Bosquet L, Leger L & Legros P. (2002). Methods to determine aerobic endurance. *Sports Med* **32**, 675-700.
- Bottinelli R & Reggiani C. (2000). Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. *Prog Biophys Mol Biol* **73**, 195-262.
- Brisswalter J & Hausswirth C. (2003). *Energie et performance physique et sportive*. Armand Colin, Paris.
- Brueckner JC, Atchou G, Capelli C, Duvallet A, Barrault D, Jusselin E, Rieu M & di Prampero PE. (1991). The energy cost of running increases with the distance covered. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **62**, 385-389.
- Burnley M, Doust JH, Ball D & Jones AM. (2002). Effects of prior heavy exercise on VO₂ kinetics during heavy exercise are related to changes in muscle activity. *J Appl Physiol* **93**, 167-174.
- Byrnes WC, Clarkson PM, White JS, Hsieh SS, Frykman PN & Maughan RJ. (1985). Delayed onset muscle soreness following repeated bouts of downhill running. *J Appl Physiol* **59**, 710-715.
- Calbet JA, Boushel R, Radegran G, Sondergaard H, Wagner PD & Saltin B. (2003). Determinants of maximal oxygen uptake in severe acute hypoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **284**, R291-303.
- Calbet JA, Jensen-Urstad M, van Hall G, Holmberg HC, Rosdahl H & Saltin B. (2004). Maximal muscular vascular conductances during whole body upright exercise in humans. *J Physiol* **558**, 319-331.
- Capelli C, Schena F, Zamparo P, Monte AD, Faina M & di Prampero PE. (1998). Energetics of best performances in track cycling. *Med Sci Sports Exerc* **30**, 614-624.
- Caputo F & Denadai BS. (2004). Effects of aerobic endurance training status and specificity on oxygen uptake kinetics during maximal exercise. *Eur J Appl Physiol* **93**, 87-95.
- Carter H, Jones AM, Barstow TJ, Burnley M, Williams C & Doust JH. (2000). Effect of endurance training on oxygen uptake kinetics during treadmill running. *J Appl Physiol* **89**, 1744-1752.
- Cavagna GA. (1977). Storage and utilization of elastic energy in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* **5**, 89-129.
- Cavanagh PR. (1988). On 'muscle action' vs 'muscle contraction'. *J Biomech* **21**, 69.

- Cavanagh PR & Kram R. (1985a). The efficiency of human movement--a statement of the problem. *Med Sci Sports Exerc* **17**, 304-308.
- Cavanagh PR & Kram R. (1985b). Mechanical and muscular factors affecting the efficiency of human movement. *Med Sci Sports Exerc* **17**, 326-331.
- Cavanagh PR & Williams KR. (1982). The effect of stride length variation on oxygen uptake during distance running. *Med Sci Sports Exerc* **14**, 30-35.
- Cerretelli P. (2002). *Traité de physiologie de l'exercice et du sport*. Masson, Paris.
- Cerretelli P & Hoppeler H. (1996). Morphologic and metabolic response to chronic hypoxia: The muscle system. In *Handbook of Physiology*, ed. Fregly MJ & Blatteis CM, pp. 1155-1181. Oxford University Press, Oxford.
- Charifi N, Kadi F, Feasson L, Costes F, Geysant A & Denis C. (2004). Enhancement of microvessel tortuosity in the vastus lateralis muscle of old men in response to endurance training. *J Physiol* **554**, 559-569.
- Charloux A, Lonsdorfer-Wolf E, Richard R, Lampert E, Oswald-Mammosser M, Mettauer B, Geny B & Lonsdorfer J. (2000). A new impedance cardiograph device for the non-invasive evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the "direct" Fick method. *Eur J Appl Physiol* **82**, 313-320.
- Chauveau A. (1896). La loi de l'équivalence dans les transformations de la force chez les animaux. Vérification expérimentale par la méthode de comparaison de la dépense énergétique (évaluée d'après les échanges respiratoires) qui est respectivement engagée dans le travail positif et le travail négatif qu'exécutent les muscles. *C R Acad Sci* **122**, 113-120.
- Cheung K, Hume P & Maxwell L. (2003). Delayed onset muscle soreness : treatment strategies and performance factors. *Sports Med* **33**, 145-164.
- Chtara M, Chamari K, Chaouachi M, Chaouachi A, Koubaa D, Feki Y, Millet GP & Amri M. (2005). Effects of intra-session concurrent endurance and strength training sequence on aerobic performance and capacity. *Br J Sports Med* **39**, 555-560.
- Cleuziou C, Perrey S, Borrani F, Lecoq AM, Courteix D, Germain P & Obert P. (2004). VO₂ and EMG Activity Kinetics During Moderate and Severe Constant Work Rate Exercise in Trained Cyclists. *Can J Appl Physiol* **29**, 758-772.
- Clifford PS, Hamann JJ, Valic Z & Buckwalter JB. (2005). Counterpoint: The muscle pump is not an important determinant of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol* **99**, 372-374; discussion 374-375.
- Clifford PS & Hellsten Y. (2004). Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* **97**, 393-403.
- Close R. (1964). Dynamic Properties of Fast and Slow Skeletal Muscles of the Rat During Development. *J Physiol* **173**, 74-95.

- Collins HL, Augustyniak RA, Ansoorge EJ & O'Leary DS. (2001). Carotid baroreflex pressor responses at rest and during exercise: cardiac output vs. regional vasoconstriction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H642-648.
- Conley DL & Krahenbuhl GS. (1980). Running economy and distance running performance of highly trained athletes. *Med Sci Sports Exerc* **12**, 357-360.
- Conley KE, Kemper WF & Crowther GJ. (2001). Limits to sustainable muscle performance: interaction between glycolysis and oxidative phosphorylation. *J Exp Biol* **204**, 3189-3194.
- Connes P, Perrey S, Varray A, Prefaut C & Caillaud C. (2003). Faster oxygen uptake kinetics at the onset of submaximal cycling exercise following 4 weeks recombinant human erythropoietin (r-HuEPO) treatment. *Pflugers Arch* **447**, 231-238.
- Cornu C, Almeida Silveira MI & Goubel F. (1997). Influence of plyometric training on the mechanical impedance of the human ankle joint. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **76**, 282-288.
- Coyle EF. (2000). Physical activity as a metabolic stressor. *Am J Clin Nutr* **72**, 512S-520S.
- Coyle EF, Coggan AR, Hopper MK & Walters TJ. (1988). Determinants of endurance in well-trained cyclists. *J Appl Physiol* **64**, 2622-2630.
- Coyle EF, Feltner ME, Kautz SA, Hamilton MT, Montain SJ, Baylor AM, Abraham LD & Petrek GW. (1991). Physiological and biomechanical factors associated with elite endurance cycling performance. *Med Sci Sports Exerc* **23**, 93-107.
- Coyle EF, Sidossis LS, Horowitz JF & Beltz JD. (1992). Cycling efficiency is related to the percentage of type I muscle fibers. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 782-788.
- Crisafulli A, Scott AC, Wensel R, Davos CH, Francis DP, Pagliaro P, Coats AJ, Concu A & Piepoli MF. (2003). Muscle metaboreflex-induced increases in stroke volume. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 221-228; discussion 229.
- Dalleau G, Belli A, Bourdin M & Lacour JR. (1998). The spring-mass model and the energy cost of treadmill running. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **77**, 257-263.
- Daniels J & Oldridge N. (1970). The effect of alternate exposure to altitude and sea-level on world-class middle distance runners. *Med Sci Sports* **2**, 107-112.
- Daniels J, Scardina N & Hayes J. (1984). Elite and sub-elite female middle- and long-distance runners. In *Proceedings of the 1984 Olympic Scientific Congress*, ed. Landers D, pp. 57-72. Human Kinetics, Oregon, Champaign (IL).
- Däpp C, Gassmann M, Hoppeler H & Flück M. (2005). Chapter 16: Hypoxia-induced gene activity in disused oxidative muscle. In Press. In *Hypoxia and Exercise*, ed. Roach Rea. Springer Publisher, New York.
- Davies CT, Di Prampero PE & Cerretelli P. (1972). Kinetics of cardiac output and respiratory gas exchange during exercise and recovery. *J Appl Physiol* **32**, 618-625.

- Davies CT & Thompson MW. (1979). Aerobic performance of female marathon and male ultramarathon athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **41**, 233-245.
- Dawes NJ, Cox VM, Park KS, Nga H & Goldspink DF. (1996). The induction of c-fos and c-jun in the stretched latissimus dorsi muscle of the rabbit: responses to duration, degree and re-application of the stretch stimulus. *Exp Physiol* **81**, 329-339.
- De Cort SC, Innes JA, Barstow TJ & Guz A. (1991). Cardiac output, oxygen consumption and arteriovenous oxygen difference following a sudden rise in exercise level in humans. *J Physiol* **441**, 501-512.
- de Koning J & van Soest K. (2002). Biomechanics. In *High Performance Cycling*, ed. Jeukendrup A, pp. 129-138. Human Kinetics, Leeds.
- Dekerle J, Baron B, Dupont L, Vanvelcenaher J & Pelayo P. (2003). Maximal lactate steady state, respiratory compensation threshold and critical power. *Eur J Appl Physiol* **89**, 281-288.
- Delp MD & Laughlin MH. (1998). Regulation of skeletal muscle perfusion during exercise. *Acta Physiol Scand* **162**, 411-419.
- Delp MD & O'Leary DS. (2004). Integrative control of the skeletal muscle microcirculation in the maintenance of arterial pressure during exercise. *J Appl Physiol* **97**, 1112-1118.
- Demarle AP, Heugas AM, Slawinski JJ, Tricot VM, Koralsztejn JP & Billat VL. (2003). Whichever the initial training status, any increase in velocity at lactate threshold appears as a major factor in improved time to exhaustion at the same severe velocity after training. *Arch Physiol Biochem* **111**, 167-176.
- Demarle AP, Slawinski JJ, Laffite LP, Bocquet VG, Koralsztejn JP & Billat VL. (2001). Decrease of O₂ deficit is a potential factor in increased time to exhaustion after specific endurance training. *J Appl Physiol* **90**, 947-953.
- Desplanches D, Hoppeler H, Linossier MT, Denis C, Claassen H, Dormois D, Lacour JR & Geysant A. (1993). Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on human muscle ultrastructure. *Pflugers Arch* **425**, 263-267.
- Desplanches D, Hoppeler H, Tuscher L, Mayet MH, Spielvogel H, Ferretti G, Kayser B, Leuenberger M, Grunenfelder A & Favier R. (1996). Muscle tissue adaptations of high-altitude natives to training in chronic hypoxia or acute normoxia. *J Appl Physiol* **81**, 1946-1951.
- di Prampero PE. (1985). Metabolic and circulatory limitations to VO₂ max at the whole animal level. *J Exp Biol* **115**, 319-331.
- di Prampero PE. (1986). The energy cost of human locomotion on land and in water. *Int J Sports Med* **7**, 55-72.
- di Prampero PE. (1999). A brief comment on the factors limiting maximal oxygen consumption in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **80**, 516-517.

- di Prampero PE. (2000). Cycling on Earth, in space, on the Moon. *Eur J Appl Physiol* **82**, 345-360.
- di Prampero PE, Atchou G, Bruckner JC & Moia C. (1986). The energetics of endurance running. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **55**, 259-266.
- Di Prampero PE, Capelli C, Pagliaro P, Antonutto G, Girardis M, Zamparo P & Soule RG. (1993). Energetics of best performances in middle-distance running. *J Appl Physiol* **74**, 2318-2324.
- Dobson JL & Gladden LB. (2003). Effect of rhythmic tetanic skeletal muscle contractions on peak muscle perfusion. *J Appl Physiol* **94**, 11-19.
- Docherty D & Sporer B. (2000). A proposed model for examining the interference phenomenon between concurrent aerobic and strength training. *Sports Med* **30**, 385-394.
- Doherty M, Nobbs L & Noakes TD. (2003). Low frequency of the "plateau phenomenon" during maximal exercise in elite British athletes. *Eur J Appl Physiol*.
- Donald DE, Rowlands DJ & Ferguson DA. (1970). Similarity of blood flow in the normal and the sympathectomized dog hind limb during graded exercise. *Circ Res* **26**, 185-199.
- Dudley GA & Djamil R. (1985). Incompatibility of endurance- and strength-training modes of exercise. *J Appl Physiol* **59**, 1446-1451.
- Durnin JV & Womersley J. (1974). Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* **32**, 77-97.
- Edwards AM & Cooke CB. (2004). Oxygen uptake kinetics and maximal aerobic power are unaffected by inspiratory muscle training in healthy subjects where time to exhaustion is extended. *Eur J Appl Physiol* **93**, 139-144.
- Ellsworth ML, Forrester T, Ellis CG & Dietrich HH. (1995). The erythrocyte as a regulator of vascular tone. *Am J Physiol* **269**, H2155-2161.
- Emonson DL, Aminuddin AH, Wight RL, Scroop GC & Gore CJ. (1997). Training-induced increases in sea level VO₂max and endurance are not enhanced by acute hypobaric exposure. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **76**, 8-12.
- Esteve-Lanao J, San Juan AF, Earnest CP, Foster C & Lucia A. (2005). How do endurance runners actually train? Relationship with competition performance. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 496-504.
- Evans DT, Smith LL, Chenier TC & al. (1990). Changes in peak torque, limb volume and delayed onset muscle soreness following repetitive eccentric contractions. *Int J Sports Med* **11**.
- Faina M, Billat V, Squadrone R, De Angelis M, Koralsztein JP & Dal Monte A. (1997). Anaerobic contribution to the time to exhaustion at the minimal exercise intensity at which maximal oxygen uptake occurs in elite cyclists, kayakers and swimmers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **76**, 13-20.

-
- Faria EW, Parker DL & Faria IE. (2005). The science of cycling: physiology and training - part 1. *Sports Med* **35**, 285-312.
- Faulkner JA. (2003). Terminology for contractions of muscles during shortening, while isometric, and during lengthening. *J Appl Physiol* **95**, 455-459.
- Faulkner JA, Daniels JT & Balke B. (1967). Effects of training at moderate altitude on physical performance capacity. *J Appl Physiol* **23**, 85-89.
- Fitts RH, Booth FW, Winder WW & Holloszy JO. (1975). Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *Am J Physiol* **228**, 1029-1033.
- Fitz-Clarke JR, Morton RH & Banister EW. (1991). Optimizing athletic performance by influence curves. *J Appl Physiol* **71**, 1151-1158.
- Flamm SD, Taki J, Moore R, Lewis SF, Keech F, Maltais F, Ahmad M, Callahan R, Dragotakes S, Alpert N & et al. (1990). Redistribution of regional and organ blood volume and effect on cardiac function in relation to upright exercise intensity in healthy human subjects. *Circulation* **81**, 1550-1559.
- Fluck M. (2004). Exercise-modulated mitochondrial phenotype; sensors and gene regulation. *J Muscle Res Cell Motil* **25**, 235-237.
- Fluck M, Chiquet M, Schmutz S, Mayet-Sornay MH & Desplanches D. (2003). Reloading of atrophied rat soleus muscle induces tenascin-C expression around damaged muscle fibers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **284**, R792-801.
- Fluck M & Hoppeler H. (2003). Molecular basis of skeletal muscle plasticity--from gene to form and function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* **146**, 159-216.
- Foster C, Florhaug JA, Franklin J, Gottschall L, Hrovatin LA, Parker S, Doleshal P & Dodge C. (2001). A new approach to monitoring exercise training. *J Strength Cond Res* **15**, 109-115.
- Fry AC. (2004). The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sports Med* **34**, 663-679.
- Fuglevand AJ & Segal SS. (1997). Simulation of motor unit recruitment and microvascular unit perfusion: spatial considerations. *J Appl Physiol* **83**, 1223-1234.
- Fukuba Y, Miura A, Endo M, Kan A, Yanagawa K & Whipp BJ. (2003). The curvature constant parameter of the power-duration curve for varied-power exercise. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 1413-1418.
- Fukuba Y, Ohe Y, Miura A, Kitano A, Endo M, Sato H, Miyachi M, Koga S & Fukuda O. (2004). Dissociation between the time courses of femoral artery blood flow and pulmonary VO₂ during repeated bouts of heavy knee extension exercise in humans. *Exp Physiol* **89**, 243-253.
- Fulco CS, Rock PB & Cymerman A. (2000). Improving athletic performance: is altitude residence or altitude training helpful? *Aviat Space Environ Med* **71**, 162-171.

- Furchgott RF & Martin W. (1985). Interactions of endothelial cells and smooth muscle cells of arteries. *Chest* **88**, 210S-213S.
- Gaesser GA & Poole DC. (1996). The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. *Exerc Sport Sci Rev* **24**, 35-71.
- Gallagher KM, Fadel PJ, Stromstad M, Ide K, Smith SA, Querry RG, Raven PB & Secher NH. (2001). Effects of partial neuromuscular blockade on carotid baroreflex function during exercise in humans. *J Physiol* **533**, 861-870.
- Galy O, Manetta J, Coste O, Maimoun L, Chamari K & Hue O. (2003). Maximal oxygen uptake and power of lower limbs during a competitive season in triathletes. *Scand J Med Sci Sports* **13**, 185-193.
- Gandevia SC, Macefield VG, Bigland-Ritchie B, Gorman RB & Burke D. (1993). Motoneuronal output and gradation of effort in attempts to contract acutely paralysed leg muscles in man. *J Physiol* **471**, 411-427.
- Garland SW, Newham DJ & Turner DL. (2004). The amplitude of the slow component of oxygen uptake is related to muscle contractile properties. *Eur J Appl Physiol* **91**, 192-198.
- Garnier A, Fortin D, Zoll J, N'Guessan B, Mettauer B, Lampert E, Veksler V & Ventura-Clapier R. (2005). Coordinated changes in mitochondrial function and biogenesis in healthy and diseased human skeletal muscle. *Faseb J* **19**, 43-52.
- Gastin PB. (2001). Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. *Sports Med* **31**, 725-741.
- Geers C & Gros G. (2000). Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle. *Physiol Rev* **80**, 681-715.
- Geiser J, Vogt M, Billeter R, Zuleger C, Belforti F & Hoppeler H. (2001). Training high--living low: changes of aerobic performance and muscle structure with training at simulated altitude. *Int J Sports Med* **22**, 579-585.
- Gibbs CL & Gibson WR. (1972). Energy production of rat soleus muscle. *Am J Physiol* **223**, 864-871.
- Gilligan DM, Panza JA, Kilcoyne CM, Waclawiw MA, Casino PR & Quyyumi AA. (1994). Contribution of endothelium-derived nitric oxide to exercise-induced vasodilation. *Circulation* **90**, 2853-2858.
- Gladwell VF & Coote JH. (2002). Heart rate at the onset of muscle contraction and during passive muscle stretch in humans: a role for mechanoreceptors. *J Physiol* **540**, 1095-1102.
- Gledhill N, Cox D & Jamnik R. (1994). Endurance athletes' stroke volume does not plateau: major advantage is diastolic function. *Med Sci Sports Exerc* **26**, 1116-1121.

- Goddard RF. (1967). *The effects of altitude on physical performance*. The Athletic Institute, Albuquerque.
- Gollnick PD, Piehl K & Saltin B. (1974). Selective glycogen depletion pattern in human muscle fibres after exercise of varying intensity and at varying pedalling rates. *J Physiol* **241**, 45-57.
- Gonzalez-Alonso J & Calbet JA. (2003). Reductions in systemic and skeletal muscle blood flow and oxygen delivery limit maximal aerobic capacity in humans. *Circulation* **107**, 824-830.
- Gonzalez-Alonso J, Calbet JA & Nielsen B. (1999). Metabolic and thermodynamic responses to dehydration-induced reductions in muscle blood flow in exercising humans. *J Physiol* **520 Pt 2**, 577-589.
- Gonzalez-Alonso J, Dalsgaard MK, Osada T, Volianitis S, Dawson EA, Yoshiga CC & Secher NH. (2004). Brain and central haemodynamics and oxygenation during maximal exercise in humans. *J Physiol* **557**, 331-342.
- Gonzalez-Alonso J, Olsen DB & Saltin B. (2002). Erythrocyte and the regulation of human skeletal muscle blood flow and oxygen delivery: role of circulating ATP. *Circ Res* **91**, 1046-1055.
- Gonzalez-Alonso J, Richardson RS & Saltin B. (2001). Exercising skeletal muscle blood flow in humans responds to reduction in arterial oxyhaemoglobin, but not to altered free oxygen. *J Physiol* **530**, 331-341.
- Goodwin GM, McCloskey DI & Mitchell JH. (1972). Cardiovascular and respiratory responses to changes in central command during isometric exercise at constant muscle tension. *J Physiol* **226**, 173-190.
- Gordon SE, Fluck M & Booth FW. (2001). Selected Contribution: Skeletal muscle focal adhesion kinase, paxillin, and serum response factor are loading dependent. *J Appl Physiol* **90**, 1174-1183; discussion 1165.
- Gore CJ, Hahn AG, Aughey RJ, Martin DT, Ashenden MJ, Clark SA, Garnham AP, Roberts AD, Slater GJ & McKenna MJ. (2001). Live high:train low increases muscle buffer capacity and submaximal cycling efficiency. *Acta Physiol Scand* **173**, 275-286.
- Gore CJ, Little SC, Hahn AG, Scroop GC, Norton KI, Bourdon PC, Woolford SM, Buckley JD, Stanef T, Campbell DP, Watson DB & Emonson DL. (1997). Reduced performance of male and female athletes at 580 m altitude. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **75**, 136-143.
- Gotshall RW, Bauer TA & Fahrner SL. (1996). Cycling cadence alters exercise hemodynamics. *Int J Sports Med* **17**, 17-21.
- Grassi B, Poole DC, Richardson RS, Knight DR, Erickson BK & Wagner PD. (1996). Muscle O₂ uptake kinetics in humans: implications for metabolic control. *J Appl Physiol* **80**, 988-998.

- Grassi B, Quaresima V, Marconi C, Ferrari M & Cerretelli P. (1999). Blood lactate accumulation and muscle deoxygenation during incremental exercise. *J Appl Physiol* **87**, 348-355.
- Green HJ & Patla AE. (1992). Maximal aerobic power: neuromuscular and metabolic considerations. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 38-46.
- Green HJ, Roy B, Grant S, Hughson R, Burnett M, Otto C, Pipe A, McKenzie D & Johnson M. (2000). Increases in submaximal cycling efficiency mediated by altitude acclimatization. *J Appl Physiol* **89**, 1189-1197.
- Green HJ, Sutton JR, Cymerman A, Young PM & Houston CS. (1989). Operation Everest II: adaptations in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* **66**, 2454-2461.
- Hagberg JM, Hickson RC, Ehsani AA & Holloszy JO. (1980). Faster adjustment to and recovery from submaximal exercise in the trained state. *J Appl Physiol* **48**, 218-224.
- Hakkinen K, Alen M, Kraemer WJ, Gorostiaga E, Izquierdo M, Rusko H, Mikkola J, Hakkinen A, Valkeinen H, Kaarakainen E, Romu S, Erola V, Ahtiainen J & Paavolainen L. (2003). Neuromuscular adaptations during concurrent strength and endurance training versus strength training. *Eur J Appl Physiol* **89**, 42-52.
- Halliwill JR, Lawler LA, Eickhoff TJ, Dietz NM, Nauss LA & Joyner MJ. (1997). Forearm sympathetic withdrawal and vasodilatation during mental stress in humans. *J Physiol* **504** (Pt 1), 211-220.
- Hamann JJ, Buckwalter JB, Clifford PS & Shoemaker JK. (2004). Is the blood flow response to a single contraction determined by work performed? *J Appl Physiol* **96**, 2146-2152.
- Hamann JJ, Kluess HA, Buckwalter JB & Clifford PS. (2005). Blood flow response to muscle contractions is more closely related to metabolic rate than contractile work. *J Appl Physiol* **98**, 2096-2100.
- Haouzi P, Chenuel B & Huszczuk A. (2004). Sensing vascular distension in skeletal muscle by slow conducting afferent fibers: neurophysiological basis and implication for respiratory control. *J Appl Physiol* **96**, 407-418.
- Haouzi P, Hill JM, Lewis BK & Kaufman MP. (1999). Responses of group III and IV muscle afferents to distension of the peripheral vascular bed. *J Appl Physiol* **87**, 545-553.
- Harber MP, Gallagher PM, Creer AR, Minchev KM & Trappe SW. (2004). Single muscle fiber contractile properties during a competitive season in male runners. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **287**, R1124-1131.
- Haseler LJ, Richardson RS, Videen JS & Hogan MC. (1998). Phosphocreatine hydrolysis during submaximal exercise: the effect of FIO₂. *J Appl Physiol* **85**, 1457-1463.
- Hawley JA. (2002). Adaptations of skeletal muscle to prolonged, intense endurance training. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **29**, 218-222.
- Hawley JA & Stepto NK. (2001). Adaptations to training in endurance cyclists: implications for performance. *Sports Med* **31**, 511-520.

- Haycock GB, Schwartz GJ & Wisotsky DH. (1978). Geometric method for measuring body surface area: a height-weight formula validated in infants, children, and adults. *J Pediatr* **93**, 62-66.
- Heise GD & Martin PE. (1998). "Leg spring" characteristics and the aerobic demand of running. *Med Sci Sports Exerc* **30**, 750-754.
- Hendriksen IJ & Meeuwse T. (2003). The effect of intermittent training in hypobaric hypoxia on sea-level exercise: a cross-over study in humans. *Eur J Appl Physiol* **88**, 396-403.
- Hepple RT, Hogan MC, Stary C, Bebout DE, Mathieu-Costello O & Wagner PD. (2000). Structural basis of muscle O₂ diffusing capacity: evidence from muscle function in situ. *J Appl Physiol* **88**, 560-566.
- Hermansen L & Saltin B. (1969). Oxygen uptake during maximal treadmill and bicycle exercise. *J Appl Physiol* **26**, 31-37.
- Hertel HC, Howaldt B & Mense S. (1976). Responses of group IV and group III muscle afferents to thermal stimuli. *Brain Res* **113**, 201-205.
- Hesser CM, Linnarsson D & Bjurstedt H. (1977). Cardiorespiratory and metabolic responses to positive, negative and minimum-load dynamic leg exercise. *Respir Physiol* **30**, 51-67.
- Heubert R, Bocquet V, Koralsztein JP & Billat V. (2003). Effect of 4 weeks of training on the limit time at VO₂ max. *Can J Appl Physiol* **28**, 717-736.
- Hickson RC. (1980). Interference of strength development by simultaneously training for strength and endurance. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **45**, 255-263.
- Hickson RC, Dvorak BA, Gorostiaga EM, Kurowski TT & Foster C. (1988). Potential for strength and endurance training to amplify endurance performance. *J Appl Physiol* **65**, 2285-2290.
- Hickson RC, Kanakis C, Jr., Davis JR, Moore AM & Rich S. (1982). Reduced training duration effects on aerobic power, endurance, and cardiac growth. *J Appl Physiol* **53**, 225-229.
- Hickson RC, Rosenkoetter MA & Brown MM. (1980). Strength training effects on aerobic power and short-term endurance. *Med Sci Sports Exerc* **12**, 336-339.
- Hiilloskorpi HK, Pasanen ME, Fogelholm MG, Laukkanen RM & Manttari AT. (2003). Use of heart rate to predict energy expenditure from low to high activity levels. *Int J Sports Med* **24**, 332-336.
- Hill AV & Lupton H. (1923). Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. *Q J M Jan*, 135-171.
- Hochachka PW, Stanley C, Merkt J & Sumar-Kalinowski J. (1983). Metabolic meaning of elevated levels of oxidative enzymes in high altitude adapted animals: an interpretive hypothesis. *Respir Physiol* **52**, 303-313.
- Hoff J & Almasbakk B. (1995). The effects of maximum strength training on throwing velocity and muscle strength in female team-handball players. *J Strength Cond Res* **9**, 255-258.

- Hoff J, Gran A & Helgerud J. (2002). Maximal strength training improves aerobic endurance performance. *Scand J Med Sci Sports* **12**, 288-295.
- Hoff J, Helgerud J & Wisloff U. (1999). Maximal strength training improves work economy in trained female cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 870-877.
- Hogan MC, Richardson RS & Haseler LJ. (1999). Human muscle performance and PCr hydrolysis with varied inspired oxygen fractions: a ³¹P-MRS study. *J Appl Physiol* **86**, 1367-1373.
- Holloszy JO & Coyle EF. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol* **56**, 831-838.
- Honig CR, Connett RJ & Gayeski TE. (1992). O₂ transport and its interaction with metabolism; a systems view of aerobic capacity. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 47-53.
- Honig CR, Odoroff CL & Frierson JL. (1980). Capillary recruitment in exercise: rate, extent, uniformity, and relation to blood flow. *Am J Physiol* **238**, H31-42.
- Hood DA. (2001). Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *J Appl Physiol* **90**, 1137-1157.
- Hoppeler H & Fluck M. (2002). Normal mammalian skeletal muscle and its phenotypic plasticity. *J Exp Biol* **205**, 2143-2152.
- Hoppeler H & Fluck M. (2003). Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 95-104.
- Hoppeler H, Howald H, Conley K, Lindstedt SL, Claassen H, Vock P & Weibel ER. (1985). Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J Appl Physiol* **59**, 320-327.
- Hoppeler H, Kleinert E, Schlegel C, Claassen H, Howald H, Kayar SR & Cerretelli P. (1990). Morphological adaptations of human skeletal muscle to chronic hypoxia. *Int J Sports Med* **11 Suppl 1**, S3-9.
- Hoppeler H, Mathieu-Costello O & Kayar SR. (1991). Mitochondria and microvascular design. In *The Lung Scientific Foundations*, ed. Crystal RG & West JB, pp. 1467-1477. Raven Press, New-York.
- Hoppeler H & Vogt M. (2001). Hypoxia training for sea-level performance. Training high-living low. *Adv Exp Med Biol* **502**, 61-73.
- Hoppeler H, Vogt M, Weibel ER & Fluck M. (2003). Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. *Exp Physiol* **88**, 109-119.
- Hornbein TF & Schoene RB. (2001). *High Altitude: An Exploration of Human Adaptation*, vol. 161. Marcel Dekker, New-York.
- Howley ET, Bassett DR, Jr. & Welch HG. (1995). Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc* **27**, 1292-1301.

- Hughes RL, Clode M, Edwards RH, Goodwin TJ & Jones NL. (1968). Effect of inspired O₂ on cardiopulmonary and metabolic responses to exercise in man. *J Appl Physiol* **24**, 336-347.
- Huijing P. (1999). Muscular force transmission: a unified, dual or multiple system? A review and some explorative experimental results. *Arch Physiol Biochem* **107**, 292-311.
- Huxley AF. (1998). Biological motors: energy storage in myosin molecules. *Curr Biol* **8**, R485-488.
- Iwaoka K, Hatta H, Atomi Y & Miyashita M. (1988). Lactate, respiratory compensation thresholds, and distance running performance in runners of both sexes. *Int J Sports Med* **9**, 306-309.
- Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, Wilson MI, Gielbert J, Gaskell SJ, Kriegsheim A, Hebestreit HF, Mukherji M, Schofield CJ, Maxwell PH, Pugh CW & Ratcliffe PJ. (2001). Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* **292**, 468-472.
- Jensen FB. (2004). Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport. *Acta Physiol Scand* **182**, 215-227.
- Jensen L, Bangsbo J & Hellsten Y. (2004). Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J Physiol* **557**, 571-582.
- Jeukendrup AE, Craig NP & Hawley JA. (2000). The bioenergetics of World Class Cycling. *J Sci Med Sport* **3**, 414-433.
- Jeukendrup AE & van Diemen AB. (1998). Heart rate monitoring during training and competition in cyclists. *J Sports Sci* **16**, S91-S99.
- Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J & Stamler JS. (1996). S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* **380**, 221-226.
- Jones AM. (2002). Running economy is negatively related to sit-and-reach test performance in international-standard distance runners. *Int J Sports Med* **23**, 40-43.
- Jones AM & Carter H. (2000). The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. *Sports Med* **29**, 373-386.
- Jones AM & Poole DC. (2005). Oxygen Uptake Dynamics: From Muscle to Mouth-An Introduction to the Symposium. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 1542-1550.
- Jones AM, Pringle JS & Carter H. (2005). Influence of muscle fiber type and motor unit recruitment on VO₂ kinetics. In *Oxygen Uptake Kinetics in Sports, Exercise and Medicine*, ed. Jones AM & Poole DC, pp. 261-293. Routledge, London.
- Jones AM, Wilkerson DP, Wilmshurst S & Campbell IT. (2004). Influence of L-NAME on pulmonary O₂ uptake kinetics during heavy-intensity cycle exercise. *J Appl Physiol* **96**, 1033-1038.

- Joyner MJ & Halliwill JR. (2000a). Neurogenic vasodilation in human skeletal muscle: possible role in contraction-induced hyperaemia. *Acta Physiol Scand* **168**, 481-488.
- Joyner MJ & Halliwill JR. (2000b). Sympathetic vasodilatation in human limbs. *J Physiol* **526 Pt 3**, 471-480.
- Kalliokoski KK, Oikonen V, Takala TO, Sipila H, Knuuti J & Nuutila P. (2001). Enhanced oxygen extraction and reduced flow heterogeneity in exercising muscle in endurance-trained men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**, E1015-1021.
- Kaneko M. (1990). Mechanics and energetics in running with special reference to efficiency. *J Biomech* **23 Suppl 1**, 57-63.
- Katayama K, Matsuo H, Ishida K, Mori S & Miyamura M. (2003). Intermittent hypoxia improves endurance performance and submaximal exercise efficiency. *High Alt Med Biol* **4**, 291-304.
- Katayama K, Sato K, Matsuo H, Ishida K, Iwasaki K & Miyamura M. (2004). Effect of intermittent hypoxia on oxygen uptake during submaximal exercise in endurance athletes. *Eur J Appl Physiol* **92**, 75-83.
- Katz A & Sahlin K. (1987). Effect of decreased oxygen availability on NADH and lactate contents in human skeletal muscle during exercise. *Acta Physiol Scand* **131**, 119-127.
- Kaufman MP. (1995). Afferents from limbs skeletal muscle. In *Lung Biology in Health and Disease Regulation of Breathing*, ed. Dempsey JA & Pack AI. Dekker, New-York.
- Kaufman MP, Hayes SG, Adreani CM & Pickar JG. (2002). Discharge properties of group III and IV muscle afferents. *Adv Exp Med Biol* **508**, 25-32.
- Kawakami Y, Abe T & Fukunaga T. (1993). Muscle-fiber pennation angles are greater in hypertrophied than in normal muscles. *J Appl Physiol* **74**, 2740-2744.
- Kilgore JL, Musch TI & Ross CR. (1998). Physical activity, muscle, and the HSP70 response. *Can J Appl Physiol* **23**, 245-260.
- Kime R, Karlsen T, Nioka S, Lech G, Madsen O, Saeterdal R, Im J, Chance B & Stray-Gundersen J. (2003). Discrepancy between cardiorespiratory system and skeletal muscle in elite cyclists after hypoxic training. *Dyn Med* **2**, 4.
- Kindermann W, Simon G & Keul J. (1979). The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **42**, 25-34.
- Kjaer M. (2004). Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* **84**, 649-698.
- Kniffeki KD, Mense S & Schmidt RF. (1981). Muscle receptors with fine afferent fibers which may evoke circulatory reflexes. *Circ Res* **48**, I25-31.

- Knuttgen HG, Petersen FB & Klausen K. (1971). Oxygen uptake and heart rate responses to exercise performed with concentric and eccentric muscle contractions. *Med Sci Sports* **3**, 1-5.
- Knuttgen HG & Saltin B. (1972). Muscle metabolites and oxygen uptake in short-term submaximal exercise in man. *J Appl Physiol* **32**, 690-694.
- Koller A & Bagi Z. (2002). On the role of mechanosensitive mechanisms eliciting reactive hyperemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **283**, H2250-2259.
- Koppo K, Whipp BJ, Jones AM, Aeyels D & Bouckaert J. (2004). Overshoot in VO₂ following the onset of moderate-intensity cycle exercise in trained cyclists. *Eur J Appl Physiol* **93**, 366-373.
- Kraemer W & Nindl B. (1998). Factors involved with overtraining for strength and power. In *Overtraining in sport*, ed. Kreider R, Fry A & O'Toole M, pp. 68-86. Human Kinetics, Champaign, IL.
- Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, Fleck SJ, Franklin B, Fry AC, Hoffman JR, Newton RU, Potteiger J, Stone MH, Ratamess NA & Triplett-McBride T. (2002). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 364-380.
- Krogh A & Lindhard J. (1913-1914). The regulation of respiration and circulation during the early stages of muscular work. *J Physiol* **47**, 112-136.
- Krogh A & Lindhard J. (1917). A comparison between voluntary and electrically induced muscular work in man. *J Physiol* **51**, 182-201.
- Krustrup P, K SO, Mohr M & Bangsbo J. (2004a). Slow-Twitch Fiber Glycogen Depletion Elevates Moderate-Exercise Fast-Twitch Fiber Activity and O₂ Uptake. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 973-982.
- Krustrup P, Soderlund K, Mohr M, Gonzalez-Alonso J & Bangsbo J. (2004b). Recruitment of fibre types and quadriceps muscle portions during repeated, intense knee-extensor exercise in humans. *Pflugers Arch* **449**, 56-65.
- Kumazawa T & Mizumura K. (1977). Thin-fibre receptors responding to mechanical, chemical, and thermal stimulation in the skeletal muscle of the dog. *J Physiol* **273**, 179-194.
- Kuno S, Inaki M, Tanaka K, Itai Y & Asano K. (1994). Muscle energetics in short-term training during hypoxia in elite combination skiers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **69**, 301-304.
- Kushmerick MJ & Conley KE. (2002). Energetics of muscle contraction: the whole is less than the sum of its parts. *Biochem Soc Trans* **30**, 227-231.
- Kyrolainen H, Kivela R, Koskinen S, McBride J, Andersen JL, Takala T, Sipila S & Komi PV. (2003). Interrelationships between muscle structure, muscle strength, and running economy. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 45-49.

- LaStayo PC, Ewy GA, Pierotti DD, Johns RK & Lindstedt S. (2003a). The positive effects of negative work: increased muscle strength and decreased fall risk in a frail elderly population. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **58**, M419-424.
- Lastayo PC, Johns R, McDonagh P & Lindstedt SL. (2002). High-force eccentric exercise for sarcopenia. *Med Sci Sports Exerc* **34 Suppl 1**, p 6.
- Lastayo PC, Pierotti DJ, Pifer J, Hoppeler H & Lindstedt SL. (2000). Eccentric ergometry: increases in locomotor muscle size and strength at low training intensities. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **278**, R1282-R1288.
- Lastayo PC, Reich TE, Urquhart M, Hoppeler H & Lindstedt SL. (1999). Chronic eccentric exercise: improvements in muscle strength can occur with little demand for oxygen. *Am J Physiol* **276**, R611-R615.
- LaStayo PC, Woolf JM, Lewek MD, Snyder-Mackler L, Reich T & Lindstedt SL. (2003b). Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport. *J Orthop Sports Phys Ther* **33**, 557-571.
- Laughlin MH. (2005). The muscle pump: what question do we want to answer? *J Appl Physiol* **99**, 774.
- Laursen PB, Shing CM & Jenkins DG. (2003a). Reproducibility of the cycling time to exhaustion at .VO₂peak in highly trained cyclists. *Can J Appl Physiol* **28**, 605-615.
- Laursen PB, Shing CM, Tennant SC, Prentice CM & Jenkins DG. (2003b). A comparison of the cycling performance of cyclists and triathletes. *J Sports Sci* **21**, 411-418.
- Leonard B, Mitchell JH, Mizuno M, Rube N, Saltin B & Secher NH. (1985). Partial neuromuscular blockade and cardiovascular responses to static exercise in man. *J Physiol* **359**, 365-379.
- Leong B, Kamen G, Patten C & Burke JR. (1999). Maximal motor unit discharge rates in the quadriceps muscles of older weight lifters. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 1638-1644.
- Lepretre PM, Foster C, Koralsztein JP & Billat VL. (2005). Heart rate deflection point as a strategy to defend stroke volume during incremental exercise. *J Appl Physiol* **98**, 1660-1665.
- Leshnower BG, Potts JT, Garry MG & Mitchell JH. (2001). Reflex cardiovascular responses evoked by selective activation of skeletal muscle ergoreceptors. *J Appl Physiol* **90**, 308-316.
- Levine BD. (2002). Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol* **3**, 177-193.
- Levine BD, Friedman DB, Engfred K, Hanel B, Kjaer M, Clifford PS & Secher NH. (1992). The effect of normoxic or hypobaric hypoxic endurance training on the hypoxic ventilatory response. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 769-775.
- Levine BD & Stray-Gundersen J. (1992). A practical approach to altitude training: where to live and train for optimal performance enhancement. *Int J Sports Med* **13 Suppl 1**, S209-212.

- Levine BD & Stray-Gundersen J. (1997). "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol* **83**, 102-112.
- Levine BD, Stray-Gundersen J, Gore CJ & Hopkins WG. (2005). Point-Counterpoint: Positive effects of intermittent hypoxia (live high:train low) on exercise performance are/are not mediated primarily by augmented red cell volume. *J Appl Physiol* **99**, XX-XX.
- Li J, Maile MD, Sinoway AN & Sinoway LI. (2004). Muscle pressor reflex: potential role of vanilloid type 1 receptor and acid-sensing ion channel. *J Appl Physiol* **97**, 1709-1714.
- Lichtneckert SJ, Thomson DA & Colliander Y. (1971). Influence of muscle tension variations and energy absorption on oxygen consumption, heart rate, and cardiac output during negative work. *Scand J Clin Lab Invest* **27**, 201-205.
- Lindqvist M, Davidsson S, Hjemdahl P & Melcher A. (1996). Sustained forearm vasodilation in humans during mental stress is not neurogenically mediated. *Acta Physiol Scand* **158**, 7-14.
- Lindstedt SL & Conley KE. (2001). Human aerobic performance: too much ado about limits to $V(O_2)$. *J Exp Biol* **204**, 3195-3199.
- Lindstedt SL, Lastayo PC & Reich TE. (2001). When active muscles lengthen: properties and consequences of eccentric contractions. *News Physiol Sci* **16**, 256-261.
- Lindstedt SL, Reich TE, Keim P & LaStayo PC. (2002). Do muscles function as adaptable locomotor springs? *J Exp Biol* **205**, 2211-2216.
- Loveless DJ, Weber CL, Haseler LJ & Schneider DA. (2005). Maximal leg-strength training improves cycling economy in previously untrained men. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 1231-1236.
- Lucia A, Hoyos J, Carvajal A & Chicharro JL. (1999). Heart rate response to professional road cycling: the Tour de France. *Int J Sports Med* **20**, 167-172.
- Lucia A, Hoyos J & Chicharro JL. (2001a). Physiology of professional road cycling. *Sports Med* **31**, 325-337.
- Lucia A, Hoyos J & Chicharro JL. (2001b). Preferred pedalling cadence in professional cycling. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 1361-1366.
- Lucia A, Hoyos J, Perez M, Santalla A & Chicharro JL. (2002). Inverse relationship between VO_{2max} and economy/efficiency in world-class cyclists. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 2079-2084.
- Lucia A, Hoyos J, Santalla A, Earnest C & Chicharro JL. (2003). Tour de France versus Vuelta a Espana: which is harder? *Med Sci Sports Exerc* **35**, 872-878.
- Lucia A, Pardo J, Durantez A, Hoyos J & Chicharro JL. (1998). Physiological differences between professional and elite road cyclists. *Int J Sports Med* **19**, 342-348.
- Magder S. (2005). Muscle contractions increase exercise hyperemia by being permissive for high flows. *J Appl Physiol* **99**, 777.

- Marcinik EJ, Potts J, Schlabach G, Will S, Dawson P & Hurley BF. (1991). Effects of strength training on lactate threshold and endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* **23**, 739-743.
- Mark AL, Victor RG, Nerhed C & Wallin BG. (1985). Microneurographic studies of the mechanisms of sympathetic nerve responses to static exercise in humans. *Circ Res* **57**, 461-469.
- Masuda K, Okazaki K, Kuno S, Asano K, Shimojo H & Katsuta S. (2001). Endurance training under 2500-m hypoxia does not increase myoglobin content in human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* **85**, 486-490.
- Matsukawa K, Sadamoto T, Tsuchimochi H, Komine H, Murata J & Shimizu K. (2001). Reflex responses in plasma catecholamines caused by static contraction of skeletal muscle. *Jpn J Physiol* **51**, 591-597.
- Matsukawa K, Wall PT, Wilson LB & Mitchell JH. (1994). Reflex stimulation of cardiac sympathetic nerve activity during static muscle contraction in cats. *Am J Physiol* **267**, H821-827.
- McCall GE, Byrnes WC, Dickinson A, Pattany PM & Fleck SJ. (1996). Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *J Appl Physiol* **81**, 2004-2012.
- McClain J, Hardy JC & Sinoway LI. (1994). Forearm compression during exercise increases sympathetic nerve traffic. *J Appl Physiol* **77**, 2612-2617.
- McCloskey DI & Mitchell JH. (1972). Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol* **224**, 173-186.
- McConell GK, Costill DL, Widrick JJ, Hickey MS, Tanaka H & Gustin PB. (1993). Reduced training volume and intensity maintain aerobic capacity but not performance in distance runners. *Int J Sports Med* **14**, 33-37.
- McHugh MP. (2003). Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports* **13**, 88-97.
- McHugh MP, Connolly DA, Eston RG & Gleim GW. (1999). Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect. *Sports Med* **27**, 157-170.
- McIlveen SA, Hayes SG & Kaufman MP. (2001). Both central command and exercise pressor reflex reset carotid sinus baroreflex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H1454-1463.
- McLaren PF, Nurhayati Y & Boutcher SH. (1997). Stroke volume response to cycle ergometry in trained and untrained older men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **75**, 537-542.
- Medbo JJ & Tabata I. (1989). Relative importance of aerobic and anaerobic energy release during short-lasting exhausting bicycle exercise. *J Appl Physiol* **67**, 1881-1886.

- Meeuwssen T, Hendriksen IJ & Holewijn M. (2001). Training-induced increases in sea-level performance are enhanced by acute intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol* **84**, 283-290.
- Melissa L, MacDougall JD, Tarnopolsky MA, Cipriano N & Green HJ. (1997). Skeletal muscle adaptations to training under normobaric hypoxic versus normoxic conditions. *Med Sci Sports Exerc* **29**, 238-243.
- Mense S & Stahnke M. (1983). Responses in muscle afferent fibres of slow conduction velocity to contractions and ischaemia in the cat. *J Physiol* **342**, 383-397.
- Messonnier L, Freund H, Denis C, Dormois D, Dufour AB & Lacour JR. (2002). Time to exhaustion at VO₂max is related to the lactate exchange and removal abilities. *Int J Sports Med* **23**, 433-438.
- Messonnier L, Geysant A, Hintzy F & Lacour JR. (2004). Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on time to exhaustion at the maximum rate of oxygen uptake. *Eur J Appl Physiol*.
- Mettauer B, Zoll J, Sanchez H, Lampert E, Ribera F, Veksler V, Bigard X, Mateo P, Epailly E, Lonsdorfer J & Ventura-Clapier R. (2001). Oxidative capacity of skeletal muscle in heart failure patients versus sedentary or active control subjects. *J Am Coll Cardiol* **38**, 947-954.
- Meyer K, Steiner R, Lastayo P, Lippuner K, Allemann Y, Eberli F, Schmid J, Saner H & Hoppeler H. (2003). Eccentric exercise in coronary patients: central hemodynamic and metabolic responses. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 1076-1082.
- Meyer T, Faude O, Scharhag J, Urhausen A & Kindermann W. (2004). Is lactic acidosis a cause of exercise induced hyperventilation at the respiratory compensation point? *Br J Sports Med* **38**, 622-625.
- Meyer T, Gabriel HH & Kindermann W. (1999). Is determination of exercise intensities as percentages of VO₂max or HRmax adequate? *Med Sci Sports Exerc* **31**, 1342-1345.
- Meyer T, Lucia A, Earnest CP & Kindermann W. (2005). A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from submaximal gas exchange parameters--theory and application. *Int J Sports Med* **26 Suppl 1**, S38-48.
- Michaut A, Pousson M, Babault N & Van Hoecke J. (2002). Is eccentric exercise-induced torque decrease contraction type dependent? *Med Sci Sports Exerc* **34**, 1003-1008.
- Middlekauff HR, Chiu J, Hamilton MA, Fonarow GC, Maclellan WR, Hage A, Moriguchi J & Patel J. (2004). Muscle mechanoreceptor sensitivity in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **287**, H1937-1943.
- Miller JD. (2005). Evidence of venous suction, but from where? *J Appl Physiol* **99**, 776.
- Millet GP, Jaouen B, Borrani F & Candau R. (2002). Effects of concurrent endurance and strength training on running economy and .VO₂ kinetics. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 1351-1359.

- Millet GP, Libicz S, Borrani F, Fattori P, Bignet F & Candau R. (2003). Effects of increased intensity of intermittent training in runners with differing VO₂ kinetics. *Eur J Appl Physiol* **90**, 50-57.
- Milner-Brown HS, Stein RB & Lee RG. (1975). Synchronization of human motor units: possible roles of exercise and supraspinal reflexes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **38**, 245-254.
- Minetti AE, Ardigo LP & Saibene F. (1994). Mechanical determinants of the minimum energy cost of gradient running in humans. *J Exp Biol* **195**, 211-225.
- Mitchell JH. (1985). Cardiovascular control during exercise: central and reflex neural mechanisms. *Am J Cardiol* **55**, 34D-41D.
- Mitchell JH & Schmidt RF. (1983). Cardiovascular reflex control by afferent fibres from skeletal muscle receptors. In *Handbook of Physiology The Cardiovascular System*, pp. 623-658, Bethesda.
- Mitchell JH, Sproule BJ & Chapman CB. (1958). The physiological meaning of the maximal oxygen intake test. *J Clin Invest* **37**, 538-547.
- Mizuno M, Juel C, Bro-Rasmussen T, Mygind E, Schibye B, Rasmussen B & Saltin B. (1990). Limb skeletal muscle adaptation in athletes after training at altitude. *J Appl Physiol* **68**, 496-502.
- Morgan DW, Baldini FD, Martin PE & Kohrt WM. (1989a). Ten kilometer performance and predicted velocity at VO₂max among well-trained male runners. *Med Sci Sports Exerc* **21**, 78-83.
- Morgan DW & Daniels JT. (1994). Relationship between VO₂max and the aerobic demand of running in elite distance runners. *Int J Sports Med* **15**, 426-429.
- Morgan DW, Martin PE & Kohrt WM. (1986). Relationship between distance-running performance and velocity at VO₂max in well-trained runners. *Med Sci Sports Exerc* **18**, 537S.
- Morgan DW, Martin PE & Krahenbuhl GS. (1989b). Factors affecting running economy. *Sports Med* **7**, 310-330.
- Mortensen SP, Dawson EA, Yoshiga CC, Dalsgaard MK, Damsgaard R, Secher NH & Gonzalez-Alonso J. (2005). Limitations to systemic and locomotor limb muscle oxygen delivery and uptake during maximal exercise in humans. *J Physiol* **566**, 273-285.
- Murad F. (1986). Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J Clin Invest* **78**, 1-5.
- Murata J & Matsukawa K. (2001). Cardiac vagal and sympathetic efferent discharges are differentially modified by stretch of skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H237-245.
- Myburgh KH. (2003). What makes an endurance athlete world-class? Not simply a physiological conundrum. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **136**, 171-190.

- Negrao CE, Rondon MU, Tinucci T, Alves MJ, Roveda F, Braga AM, Reis SF, Nastari L, Barretto AC, Krieger EM & Middlekauff HR. (2001). Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H1286-1292.
- Nelson AG, Arnall DA, Loy SF, Silvester LJ & Conlee RK. (1990). Consequences of combining strength and endurance training regimens. *Phys Ther* **70**, 287-294.
- N'Guessan B, Zoll J, Ribera F, Ponsot E, Lampert E, Ventura-Clapier R, Veksler V & Mettauer B. (2004). Evaluation of quantitative and qualitative aspects of mitochondrial function in human skeletal and cardiac muscles. *Mol Cell Biochem* **256-257**, 267-280.
- Noakes T. (1991). *Lore of Running*. Human Kinetics, Champaign, IL.
- Noakes TD, Myburgh KH & Schall R. (1990). Peak treadmill running velocity during the VO₂ max test predicts running performance. *J Sports Sci* **8**, 35-45.
- Nobrega AC, Williamson JW, Friedman DB, Araujo CG & Mitchell JH. (1994). Cardiovascular responses to active and passive cycling movements. *Med Sci Sports Exerc* **26**, 709-714.
- Nosaka K, Sakamoto K, Newton M & Sacco P. (2001). The repeated bout effect of reduced-load eccentric exercise on elbow flexor muscle damage. *Eur J Appl Physiol* **85**, 34-40.
- Nurhayati Y & Boutcher SH. (1998). Cardiovascular response to passive cycle exercise. *Med Sci Sports Exerc* **30**, 234-238.
- Ono M, Miyashita M & Asami T. (1976). Inhibitory effect of long distance running and training on the vertical jump and other performances among aged males. In *Biomechanics v-b*, ed. Komi PV, pp. 94-100. University Park Press, Baltimore, MD.
- Osteras H, Helgerud J & Hoff J. (2002). Maximal strength-training effects on force-velocity and force-power relationships explain increases in aerobic performance in humans. *Eur J Appl Physiol* **88**, 255-263.
- Paavolainen L, Hakkinen K, Hamalainen I, Nummela A & Rusko H. (1999a). Explosive-strength training improves 5-km running time by improving running economy and muscle power. *J Appl Physiol* **86**, 1527-1533.
- Paavolainen LM, Nummela AT & Rusko HK. (1999b). Neuromuscular characteristics and muscle power as determinants of 5-km running performance. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 124-130.
- Padilla S, Bourdin M, Barthelemy JC & Lacour JR. (1992). Physiological correlates of middle-distance running performance. A comparative study between men and women. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **65**, 561-566.
- Padilla S, Mujika I, Angulo F & Goiriena JJ. (2000a). Scientific approach to the 1-h cycling world record: a case study. *J Appl Physiol* **89**, 1522-1527.
- Padilla S, Mujika I, Orbananos J & Angulo F. (2000b). Exercise intensity during competition time trials in professional road cycling. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 850-856.

- Padilla S, Mujika I, Orbananos J, Santisteban J, Angulo F & Jose Goirienea J. (2001). Exercise intensity and load during mass-start stage races in professional road cycling. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 796-802.
- Panchev VS, Suvandjjeva AV & Pancheva MV. (2005). The muscle pump is not an important determinant of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol* **99**, 778.
- Parker DL, Peiffer J, Garcia B, Talanian J, Faria IE & Quintana R. (2003). The unique contributions of VO₂max and muscular strength to maximal power output in trained cyclists. *Med Sci Sports Exerc* **35**, S274.
- Patel TJ & Lieber RL. (1997). Force transmission in skeletal muscle: from actomyosin to external tendons. *Exerc Sport Sci Rev* **25**, 321-363.
- Perrey S, Betik A, Candau R, Rouillon JD & Hughson RL. (2001). Comparison of oxygen uptake kinetics during concentric and eccentric cycle exercise. *J Appl Physiol* **91**, 2135-2142.
- Perrey S, Candau R, Borrani F, Millet GY & Rouillon JD. (2002). Recovery kinetics of oxygen uptake following severe-intensity exercise in runners. *J Sports Med Phys Fitness* **42**, 381-388.
- Perrey S & Hughson RL. (2003). Prolonged kinetics of oxygen uptake during recovery from eccentric versus concentric cycle exercise. *Science & Motricité* **48**, 83-97.
- Piazzesi G, Francini F, Linari M & Lombardi V. (1992). Tension transients during steady lengthening of tetanized muscle fibres of the frog. *J Physiol* **445**, 659-711.
- Piepoli M. (1998). Central role of peripheral mechanisms in exercise intolerance in chronic heart failure: the muscle hypothesis. *Cardiologia* **43**, 909-917.
- Piepoli M, Clark AL & Coats AJ. (1995). Muscle metaboreceptors in hemodynamic, autonomic, and ventilatory responses to exercise in men. *Am J Physiol* **269**, H1428-1436.
- Piepoli M, Clark AL, Volterrani M, Adamopoulos S, Sleight P & Coats AJ. (1996). Contribution of muscle afferents to the hemodynamic, autonomic, and ventilatory responses to exercise in patients with chronic heart failure: effects of physical training. *Circulation* **93**, 940-952.
- Piepoli M, Ponikowski P, Clark AL, Banasiak W, Capucci A & Coats AJ. (1999). A neural link to explain the "muscle hypothesis" of exercise intolerance in chronic heart failure. *Am Heart J* **137**, 1050-1056.
- Ponikowski P, Chua TP, Anker SD, Francis DP, Doehner W, Banasiak W, Poole-Wilson PA, Piepoli MF & Coats AJ. (2001a). Peripheral chemoreceptor hypersensitivity: an ominous sign in patients with chronic heart failure. *Circulation* **104**, 544-549.
- Ponikowski PP, Chua TP, Francis DP, Capucci A, Coats AJ & Piepoli MF. (2001b). Muscle ergoreceptor overactivity reflects deterioration in clinical status and cardiorespiratory reflex control in chronic heart failure. *Circulation* **104**, 2324-2330.

- Poole DC, Barstow TJ, Gaesser GA, Willis WT & Whipp BJ. (1994). VO₂ slow component: physiological and functional significance. *Med Sci Sports Exerc* **26**, 1354-1358.
- Poole DC, Gaesser GA, Hogan MC, Knight DR & Wagner PD. (1992). Pulmonary and leg VO₂ during submaximal exercise: implications for muscular efficiency. *J Appl Physiol* **72**, 805-810.
- Poole DC, Schaffartzik W, Knight DR, Derion T, Kennedy B, Guy HJ, Prediletto R & Wagner PD. (1991). Contribution of excising legs to the slow component of oxygen uptake kinetics in humans. *J Appl Physiol* **71**, 1245-1260.
- Poole DC, Ward SA, Gardner GW & Whipp BJ. (1988). Metabolic and respiratory profile of the upper limit for prolonged exercise in man. *Ergonomics* **31**, 1265-1279.
- Prakash ES, Madanmohan & Pal GK. (2004). What is the ultimate goal in neural regulation of cardiovascular function? *Adv Physiol Educ* **28**, 100-101.
- Proctor DN, Beck KC, Shen PH, Eickhoff TJ, Halliwill JR & Joyner MJ. (1998). Influence of age and gender on cardiac output-VO₂ relationships during submaximal cycle ergometry. *J Appl Physiol* **84**, 599-605.
- Puntschart A, Claassen H, Jostarndt K, Hoppeler H & Billeter R. (1995). mRNAs of enzymes involved in energy metabolism and mtDNA are increased in endurance-trained athletes. *Am J Physiol* **269**, C619-625.
- Puntschart A, Wey E, Jostarndt K, Vogt M, Wittwer M, Widmer HR, Hoppeler H & Billeter R. (1998). Expression of fos and jun genes in human skeletal muscle after exercise. *Am J Physiol* **274**, C129-137.
- Radegran G, Blomstrand E & Saltin B. (1999). Peak muscle perfusion and oxygen uptake in humans: importance of precise estimates of muscle mass. *J Appl Physiol* **87**, 2375-2380.
- Refsum H, Ueland PM, Nygard O & Vollset SE. (1998). Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* **49**, 31-62.
- Reich TE, Lindstedt SL, LaStayo PC & Pierotti DJ. (2000). Is the spring quality of muscle plastic? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **278**, R1661-1666.
- Remensnyder JP, Mitchell JH & Sarnoff SJ. (1962). Functional sympatholysis during muscular activity. Observations on influence of carotid sinus on oxygen uptake. *Circ Res* **11**, 370-380.
- Reynafarje B. (1962). Myoglobin content and enzymatic activity of muscle and altitude adaptation. *J Appl Physiol* **17**, 301-305.
- Rhea MR, Alvar BA, Burkett LN & Ball SD. (2003). A Meta-analysis to Determine the Dose Response for Strength Development. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 456-464.
- Richalet JP & Henry JP. (2003). *Médecine de l'alpinisme et des sports de montagne*. Masson, Paris.

- Richard R, Lonsdorfer-Wolf E, Dufour S, Doutreleau S, Oswald-Mammosser M, Billat VL & Lonsdorfer J. (2004). Cardiac output and oxygen release during very high-intensity exercise performed until exhaustion. *Eur J Appl Physiol* **93**, 9-18.
- Richardson RS, Noyszewski EA, Kendrick KF, Leigh JS & Wagner PD. (1995). Myoglobin O₂ desaturation during exercise. Evidence of limited O₂ transport. *J Clin Invest* **96**, 1916-1926.
- Richardson RS, Noyszewski EA, Leigh JS & Wagner PD. (1998). Lactate efflux from exercising human skeletal muscle: role of intracellular PO₂. *J Appl Physiol* **85**, 627-634.
- Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SR, Henry R, Noyszewski EA & Wagner PD. (1999). Human VEGF gene expression in skeletal muscle: effect of acute normoxic and hypoxic exercise. *Am J Physiol* **277**, H2247-2252.
- Roach R & Kayser B. (2001). Exercise and Hypoxia. In *High Altitude: An Exploration of Human Adaptation*, ed. Hornbein F & Schoene RB, pp. 663-706. Marcel Dekker, New-York.
- Roach RC, Koskolou MD, Calbet JA & Saltin B. (1999). Arterial O₂ content and tension in regulation of cardiac output and leg blood flow during exercise in humans. *Am J Physiol* **276**, H438-445.
- Roca J, Agusti AG, Alonso A, Poole DC, Viegas C, Barbera JA, Rodriguez-Roisin R, Ferrer A & Wagner PD. (1992). Effects of training on muscle O₂ transport at VO₂max. *J Appl Physiol* **73**, 1067-1076.
- Roca J, Hogan MC, Story D, Bebout DE, Haab P, Gonzalez R, Ueno O & Wagner PD. (1989). Evidence for tissue diffusion limitation of VO₂max in normal humans. *J Appl Physiol* **67**, 291-299.
- Roels B, Millet GP, Marcoux CJ, Coste O, Bentley DJ & Candau RB. (2005). Effects of Hypoxic Interval Training on Cycling Performance. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 138-146.
- Rooney KJ, Herbert RD & Balnave RJ. (1994). Fatigue contributes to the strength training stimulus. *Med Sci Sports Exerc* **26**, 1160-1164.
- Rooyackers JM, Berkeljon DA & Folgering HT. (2003). Eccentric exercise training in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Rehabil Res* **26**, 47-49.
- Rooyackers JM, Dekhuijzen PN, van Herwaarden CL & Folgering HT. (1997a). Potassium and ventilation during positive and negative work in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Physiol* **17**, 475-485.
- Rooyackers JM, Dekhuijzen PN, van Herwaarden CL & Folgering HT. (1997b). Ventilatory response to positive and negative work in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* **91**, 143-149.
- Roskamm H, Landry F, Samek L, Schlager M, Weidemann H & Reindell H. (1969). Effects of a standardized ergometer training program at three different altitudes. *J Appl Physiol* **27**, 840-847.

- Rossiter HB, Ward SA, Doyle VL, Howe FA, Griffiths JR & Whipp BJ. (1999). Inferences from pulmonary O₂ uptake with respect to intramuscular [phosphocreatine] kinetics during moderate exercise in humans. *J Physiol* **518** (Pt 3), 921-932.
- Rossiter HB, Ward SA, Howe FA, Wood DM, Kowalchuk JM, Griffiths JR & Whipp BJ. (2003). Effects of dichloroacetate on VO₂ and intramuscular ³¹P metabolite kinetics during high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol* **95**, 1105-1115.
- Rossiter HB, Ward SA, Kowalchuk JM, Howe FA, Griffiths JR & Whipp BJ. (2002). Dynamic asymmetry of phosphocreatine concentration and O₂ uptake between the on- and off-transients of moderate- and high-intensity exercise in humans. *J Physiol* **541**, 991-1002.
- Rothe CF. (2005). The muscle pump indeed raises muscle blood flow during locomotion. *J Appl Physiol* **99**, 773.
- Rotto DM & Kaufman MP. (1988). Effect of metabolic products of muscular contraction on discharge of group III and IV afferents. *J Appl Physiol* **64**, 2306-2313.
- Rowell LB. (1993). *Human Cardiovascular Control*. Oxford University Press, New-York.
- Rowell LB & O'Leary DS. (1990). Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* **69**, 407-418.
- Rowell LB, O'Leary DS & Kellogg DLJ. (1996). Integration of cardiovascular control systems in dynamic exercise. In *Handbook of Physiology Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*, pp. 770-838. Am. Physiol. Soc., Bethesda, MD.
- Rowland T, Garrison A & Delulio A. (2003). Circulatory responses to progressive exercise: insights from positional differences. *Int J Sports Med* **24**, 512-517.
- Rowland T & Obert P. (2002). Doppler echocardiography for the estimation of cardiac output with exercise. *Sports Med* **32**, 973-986.
- Rowland TW. (2001). The circulatory response to exercise: role of the peripheral pump. *Int J Sports Med* **22**, 558-565.
- Rusko HR. (1996). New aspects of altitude training. *Am J Sports Med* **24**, S48-52.
- Russell G, Gore CJ, Ashenden MJ, Parisotto R & Hahn AG. (2002). Effects of prolonged low doses of recombinant human erythropoietin during submaximal and maximal exercise. *Eur J Appl Physiol* **86**, 442-449.
- Rybicki KJ, Waldrop TG & Kaufman MP. (1985). Increasing gracilis muscle interstitial potassium concentrations stimulate group III and IV afferents. *J Appl Physiol* **58**, 936-941.
- Ryschon TW, Fowler MD, Wysong RE, Anthony A & Balaban RS. (1997). Efficiency of human skeletal muscle in vivo: comparison of isometric, concentric, and eccentric muscle action. *J Appl Physiol* **83**, 867-874.

- Sagawa K. (1983). Baroreflex control of systemic arterial pressure and vascular bed. In *Handbook of Physiology The Cardiovascular System, Peripheral Regulation and Organ Blood Flow*, pp. 453-496. American Physiological Society, Bethesda.
- Saito M, Tsukanaka A, Yanagihara D & Mano T. (1993). Muscle sympathetic nerve responses to graded leg cycling. *J Appl Physiol* **75**, 663-667.
- Saks VA, Kuznetsov AV, Vendelin M, Guerrero K, Kay L & Seppet EK. (2004). Functional coupling as a basic mechanism of feedback regulation of cardiac energy metabolism. *Mol Cell Biochem* **256-257**, 185-199.
- Sale DG, MacDougall JD, Jacobs I & Garner S. (1990). Interaction between concurrent strength and endurance training. *J Appl Physiol* **68**, 260-270.
- Saltin B. (1973). Oxygen transport by the circulatory system during exercise in man. In *Limiting factors of physical performance*, ed. Keul J, pp. 235-252. Thieme, Stuttgart.
- Saltin B, Henriksson J, Nygaard E, Andersen P & Jansson E. (1977). Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. *Ann N Y Acad Sci* **301**, 3-29.
- Saltin B & Strange S. (1992). Maximal oxygen uptake: "old" and "new" arguments for a cardiovascular limitation. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 30-37.
- Sarelius IH, Cohen KD & Murrant CL. (2000). Role for capillaries in coupling blood flow with metabolism. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **27**, 826-829.
- Sargeant AJ, Hoinville E & Young A. (1981). Maximum leg force and power output during short-term dynamic exercise. *J Appl Physiol* **51**, 1175-1182.
- Sato A & Schmidt RF. (1973). Somatosympathetic reflexes: afferent fibers, central pathways, discharge characteristics. *Physiol Rev* **53**, 916-947.
- Saunders NR & Tschakovsky ME. (2004). Evidence for a rapid vasodilatory contribution to immediate hyperemia in rest-to-mild and mild-to-moderate forearm exercise transitions in humans. *J Appl Physiol* **97**, 1143-1151.
- Saunders PU, Pyne DB, Telford RD & Hawley JA. (2004a). Factors affecting running economy in trained distance runners. *Sports Med* **34**, 465-485.
- Saunders PU, Telford RD, Pyne DB, Cunningham RB, Gore CJ, Hahn AG & Hawley JA. (2004b). Improved running economy in elite runners after 20 days of simulated moderate-altitude exposure. *J Appl Physiol* **96**, 931-937.
- Schmitt B, Fluck M, Decombaz J, Kreis R, Boesch C, Wittwer M, Graber F, Vogt M, Howald H & Hoppeler H. (2003). Transcriptional adaptations of lipid metabolism in tibialis anterior muscle of endurance-trained athletes. *Physiol Genomics* **15**, 148-157.
- Scott AC, Wensel R, Davos CH, Georgiadou P, Kemp M, Hooper J, Coats AJ & Piepoli MF. (2003). Skeletal muscle reflex in heart failure patients: role of hydrogen. *Circulation* **107**, 300-306.

-
- Seals DR. (1989). Influence of muscle mass on sympathetic neural activation during isometric exercise. *J Appl Physiol* **67**, 1801-1806.
- Segal SS. (1992). Communication among endothelial and smooth muscle cells coordinates blood flow with metabolism. *News Physiol Sci* **7**, 152-156.
- Segal SS. (1994). Cell-to-cell communication coordinates blood flow control. *Hypertension* **23**, 1113-1120.
- Segal SS. (2000). Integration of blood flow control to skeletal muscle: key role of feed arteries. *Acta Physiol Scand* **168**, 511-518.
- Seiler KS & Kjerland GO. (2004). Quantifying training intensity distribution in elite endurance athletes: is there evidence for an "optimal" distribution? *Scand J Med Sci Sports* **In press**.
- Semenza GL. (2000). HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* **88**, 1474-1480.
- Seyfarth A, Blickhan R & Van Leeuwen JL. (2000). Optimum take-off techniques and muscle design for long jump. *J Exp Biol* **203 Pt 4**, 741-750.
- Shepherd JT. (1983). Circulation to skeletal muscle. In *Handbook of Physiology The cardiovascular System Peripheral Circulation and Organ Blood Flow*, pp. 319-370. American Physiological Society, Bethesda, MD.
- Sheriff D. (2005). Point: The muscle pump raises muscle blood flow during locomotion. *J Appl Physiol* **99**, 371-372; discussion 374-375.
- Shibuya K & Tanaka J. (2003). Skeletal muscle oxygenation during incremental exercise. *Arch Physiol Biochem* **111**, 475-478.
- Shoemaker JK, Phillips SM, Green HJ & Hughson RL. (1996). Faster femoral artery blood velocity kinetics at the onset of exercise following short-term training. *Cardiovasc Res* **31**, 278-286.
- Shorten MR. (1987). Muscle elasticity and human performance. *Med Sci Sports* **25**, 1-18.
- Sinoway LI, Hill JM, Pickar JG & Kaufman MP. (1993). Effects of contraction and lactic acid on the discharge of group III muscle afferents in cats. *J Neurophysiol* **69**, 1053-1059.
- Sjodin B & Svedenhag J. (1985). Applied physiology of marathon running. *Sports Med* **2**, 83-99.
- Smith DJ. (2003). A framework for understanding the training process leading to elite performance. *Sports Med* **33**, 1103-1126.
- Smith RC & Rutherford OM. (1995). The role of metabolites in strength training. I. A comparison of eccentric and concentric contractions. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **71**, 332-336.
- Smith SA, Mitchell JH, Naseem RH & Garry MG. (2005). Mechanoreflex mediates the exaggerated exercise pressor reflex in heart failure. *Circulation* **112**, 2293-2300.

- Smith SA, Querry RG, Fadel PJ, Gallagher KM, Stromstad M, Ide K, Raven PB & Secher NH. (2003). Partial blockade of skeletal muscle somatosensory afferents attenuates baroreflex resetting during exercise in humans. *J Physiol* **551**, 1013-1021.
- Spurrs RW, Murphy AJ & Watsford ML. (2003). The effect of plyometric training on distance running performance. *Eur J Appl Physiol* **89**, 1-7.
- Stacey MJ. (1969). Free nerve endings in skeletal muscle of the cat. *J Anat* **105**, 231-254.
- Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J, Gernert K & Piantadosi CA. (1997). Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* **276**, 2034-2037.
- Stebbins CL, Brown B, Levin D & Longhurst JC. (1988). Reflex effect of skeletal muscle mechanoreceptor stimulation on the cardiovascular system. *J Appl Physiol* **65**, 1539-1547.
- Steiner R, Meyer K, Lippuner K, Schmid JP, Saner H & Hoppeler H. (2004). Eccentric endurance training in subjects with coronary artery disease: a novel exercise paradigm in cardiac rehabilitation? *Eur J Appl Physiol* **91**, 572-578.
- Stray-Gundersen J, Chapman RF & Levine BD. (2001). "Living high-training low" altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *J Appl Physiol* **91**, 1113-1120.
- Stray-Gundersen J & Levine BD. (1999). "Living high and training low" can improve sea level performance in endurance athletes. *Br J Sports Med* **33**, 150-151.
- Stringer W, Wasserman K, Casaburi R, Porszasz J, Maehara K & French W. (1994). Lactic acidosis as a facilitator of oxyhemoglobin dissociation during exercise. *J Appl Physiol* **76**, 1462-1467.
- Stringer WW, Hansen JE & Wasserman K. (1997). Cardiac output estimated noninvasively from oxygen uptake during exercise. *J Appl Physiol* **82**, 908-912.
- Svedenhag J, Saltin B, Johansson C & Kaijser L. (1991). Aerobic and anaerobic exercise capacities of elite middle-distance runners after two weeks of training at moderate altitude. *Scand J Med Sci Sports* **1**, 205-214.
- Tan B. (1999). Manipulating resistance training program variables to optimize maximum strength in men: a review. *J Strength Cond Res* **13**, 289-304.
- Tanaka H & Swensen T. (1998). Impact of resistance training on endurance performance. A new form of cross-training? *Sports Med* **25**, 191-200.
- Taylor HL, Buskirk E & Henschel A. (1955). Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance. *J Appl Physiol* **8**, 73-80.
- Terrados N. (1992). Altitude training and muscular metabolism. *Int J Sports Med* **13 Suppl 1**, S206-209.

- Terrados N, Jansson E, Sylven C & Kaijser L. (1990). Is hypoxia a stimulus for synthesis of oxidative enzymes and myoglobin? *J Appl Physiol* **68**, 2369-2372.
- Terrados N, Melichna J, Sylven C, Jansson E & Kaijser L. (1988). Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **57**, 203-209.
- Thomas GD & Segal SS. (2004). Neural control of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol* **97**, 731-738.
- Thomson DA. (1971). Cardiac output during positive and negative work. *Scand J Clin Lab Invest* **27**, 193-200.
- Thornton JM, Guz A, Murphy K, Griffith AR, Pedersen DL, Kardos A, Leff A, Adams L, Casadei B & Paterson DJ. (2001). Identification of higher brain centres that may encode the cardiorespiratory response to exercise in humans. *J Physiol* **533**, 823-836.
- Tomlin DL & Wenger HA. (2001). The relationship between aerobic fitness and recovery from high intensity intermittent exercise. *Sports Med* **31**, 1-11.
- Tonkonogi M, Harris B & Sahlin K. (1998). Mitochondrial oxidative function in human saponin-skinned muscle fibres: effects of prolonged exercise. *J Physiol* **510** (Pt 1), 279-286.
- Truijens MJ, Toussaint HM, Dow J & Levine BD. (2003). Effect of high-intensity hypoxic training on sea-level swimming performances. *J Appl Physiol* **94**, 733-743.
- Tschakovsky ME. (2005). The muscle pump debate: selective literature representations. *J Appl Physiol* **99**, 771.
- Tschakovsky ME, Rogers AM, Pyke KE, Saunders NR, Glenn N, Lee SJ, Weissgerber T & Dwyer EM. (2004). Immediate exercise hyperemia in humans is contraction intensity dependent: evidence for rapid vasodilation. *J Appl Physiol* **96**, 639-644.
- Tschakovsky ME & Sheriff DD. (2004). Immediate exercise hyperemia: contributions of the muscle pump vs. rapid vasodilation. *J Appl Physiol* **97**, 739-747.
- Uvnas B. (1966). Cholinergic vasodilator nerves. *Fed Proc* **25**, 1618-1622.
- Vallier JM, Chateau P & Guezennec CY. (1996). Effects of physical training in a hypobaric chamber on the physical performance of competitive triathletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **73**, 471-478.
- Veksler VI, Kuznetsov AV, Sharov VG, Kapelko VI & Saks VA. (1987). Mitochondrial respiratory parameters in cardiac tissue: a novel method of assessment by using saponin-skinned fibers. *Biochim Biophys Acta* **892**, 191-196.
- Vella CA & Robergs RA. (2005). A review of the stroke volume response to upright exercise in healthy subjects. *Br J Sports Med* **39**, 190-195.
- Vendelin M, Beraud N, Guerrero K, Andrienko T, Kuznetsov AV, Olivares J, Kay L & Saks VA. (2005). Mitochondrial regular arrangement in muscle cells: a "crystal-like" pattern. *Am J Physiol Cell Physiol* **288**, C757-767.

- Ventura N, Hoppeler H, Seiler R, Binggeli A, Mullis P & Vogt M. (2003). The response of trained athletes to six weeks of endurance training in hypoxia or normoxia. *Int J Sports Med* **24**, 166-172.
- Victor RG, Seals DR & Mark AL. (1987). Differential control of heart rate and sympathetic nerve activity during dynamic exercise. Insight from intraneural recordings in humans. *J Clin Invest* **79**, 508-516.
- Vogt M, Puntschart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R & Hoppeler H. (2001). Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* **91**, 173-182.
- Vollestad NK & Blom PC. (1985). Effect of varying exercise intensity on glycogen depletion in human muscle fibres. *Acta Physiol Scand* **125**, 395-405.
- Vollestad NK, Vaage O & Hermansen L. (1984). Muscle glycogen depletion patterns in type I and subgroups of type II fibres during prolonged severe exercise in man. *Acta Physiol Scand* **122**, 433-441.
- Wagner PD. (1992). Gas exchange and peripheral diffusion limitation. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 54-58.
- Wagner PD. (2000). Diffusive resistance to O₂ transport in muscle. *Acta Physiol Scand* **168**, 609-614.
- Wang K, McCarter R, Wright J, Beverly J & Ramirez-Mitchell R. (1993). Viscoelasticity of the sarcomere matrix of skeletal muscles. The titin-myosin composite filament is a dual-stage molecular spring. *Biophys J* **64**, 1161-1177.
- Wasserman K. (1999). Critical capillary PO₂ and the role of lactate production in oxyhemoglobin dissociation during exercise. *Adv Exp Med Biol* **471**, 321-333.
- Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Casaburi R & Whipp BJ. (1999). *Principles of exercise testing and interpretation*. Williams & Wilkins, Media.
- Wasserman K, Whipp BJ, Koysl SN & Beaver WL. (1973). Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* **35**, 236-243.
- Wells R, Morrissey M & Hughson R. (1986). Internal work and physiological responses during concentric and eccentric cycle ergometry. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **55**, 295-301.
- Wendt IR & Gibbs CL. (1973). Energy production of rat extensor digitorum longus muscle. *Am J Physiol* **224**, 1081-1086.
- Wenger HA & Bell GJ. (1986). The interactions of intensity, frequency and duration of exercise training in altering cardiorespiratory fitness. *Sports Med* **3**, 346-356.
- Wenger RH & Gassmann M. (1997). Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-1. *Biol Chem* **378**, 609-616.

- West JB. (1999). Barometric pressures on Mt. Everest: new data and physiological significance. *J Appl Physiol* **86**, 1062-1066.
- Weston AR, Mbambo Z & Myburgh KH. (2000). Running economy of African and Caucasian distance runners. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 1130-1134.
- Whipp BJ. (1987). Dynamics of pulmonary gas exchange. *Circulation* **76**, VI18-28.
- Whipp BJ, Rossiter HB, Skasick A, Ward SA & al. e. (2001). In *Proceedings of the International Union of Physiological Sciences*, pp. 1664.
- Whipp BJ, Rossiter HB & Ward SA. (2002). Exertional oxygen uptake kinetics: a stamen of stamina? *Biochem Soc Trans* **30**, 237-247.
- Whipp BJ, Ward SA & Rossiter HB. (2005). Pulmonary O₂ Uptake during Exercise: Conflating Muscular and Cardiovascular Responses. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 1574-1585.
- Whipp BJ & Wasserman K. (1972). Oxygen uptake kinetics for various intensities of constant-load work. *J Appl Physiol* **33**, 351-356.
- Widegren U, Ryder JW & Zierath JR. (2001). Mitogen-activated protein kinase signal transduction in skeletal muscle: effects of exercise and muscle contraction. *Acta Physiol Scand* **172**, 227-238.
- Wiener CM, Booth G & Semenza GL. (1996). In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor 1. *Biochem Biophys Res Commun* **225**, 485-488.
- Williams C & Nute ML. (1983). Some physiological demands of a half-marathon race on recreational runners. *Br J Sports Med* **17**, 152-161.
- Williamson JW, Mitchell JH, Olesen HL, Raven PB & Secher NH. (1994). Reflex increase in blood pressure induced by leg compression in man. *J Physiol* **475**, 351-357.
- Williamson JW, Nobrega AC, McColl R, Mathews D, Winchester P, Friberg L & Mitchell JH. (1997). Activation of the insular cortex during dynamic exercise in humans. *J Physiol* **503 (Pt 2)**, 277-283.
- Williamson JW, Nobrega AC, Winchester PK, Zim S & Mitchell JH. (1995). Instantaneous heart rate increase with dynamic exercise: central command and muscle-heart reflex contributions. *J Appl Physiol* **78**, 1273-1279.
- Williamson JW, Olesen HL, Pott F, Mitchell JH & Secher NH. (1996). Central command increases cardiac output during static exercise in humans. *Acta Physiol Scand* **156**, 429-434.
- Wilson DF, Erecinska M, Drown C & Silver IA. (1977). Effect of oxygen tension on cellular energetics. *Am J Physiol* **233**, C135-140.
- Wilson GJ, Murphy AJ & Pryor JF. (1994a). Musculotendinous stiffness: its relationship to eccentric, isometric, and concentric performance. *J Appl Physiol* **76**, 2714-2719.

- Wilson GJ, Wood GA & Elliott BC. (1991). Optimal stiffness of series elastic component in a stretch-shorten cycle activity. *J Appl Physiol* **70**, 825-833.
- Wilson LB, Wall PT, Pawelczyk JA & Matsukawa K. (1994b). Cardiorespiratory and phrenic nerve responses to graded muscle stretch in anesthetized cats. *Respir Physiol* **98**, 251-266.
- Winter D. (1979). A new definition of mechanical work done in human movement. *J Appl Physiol* **46**, 79-83.
- Wittenberg JB & Wittenberg BA. (2003). Myoglobin function reassessed. *J Exp Biol* **206**, 2011-2020.
- Womack CJ, Davis SE, Blumer JL, Barrett E, Weltman AL & Gaesser GA. (1995). Slow component of O₂ uptake during heavy exercise: adaptation to endurance training. *J Appl Physiol* **79**, 838-845.
- Wray DW & Richardson RS. (2005). The muscle pump is/is not an important determinant of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol* **99**, 772.
- Yoshida T & Whipp BJ. (1994). Dynamic asymmetries of cardiac output transients in response to muscular exercise in man. *J Physiol* **480 (Pt 2)**, 355-359.
- Yoshida T, Yamamoto K & Udo M. (1993). Relationship between cardiac output and oxygen uptake at the onset of exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **66**, 155-160.
- Zhang YY, Johnson MC, 2nd, Chow N & Wasserman K. (1991). The role of fitness on VO₂ and VCO₂ kinetics in response to proportional step increases in work rate. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **63**, 94-100.
- Zhou B, Conlee RK, Jensen R, Fellingham GW, George JD & Fisher AG. (2001). Stroke volume does not plateau during graded exercise in elite male distance runners. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 1849-1854.
- Zoll J, Koulmann N, Bahi L, Ventura-Clapier R & Bigard AX. (2003). Quantitative and qualitative adaptation of skeletal muscle mitochondria to increased physical activity. *J Cell Physiol* **194**, 186-193.
- Zoll J, Sanchez H, N'Guessan B, Ribera F, Lampert E, Bigard X, Serrurier B, Fortin D, Geny B, Veksler V, Ventura-Clapier R & Mettauer B. (2002). Physical activity changes the regulation of mitochondrial respiration in human skeletal muscle. *J Physiol* **543**, 191-200.