

UNIVERSITE DE STRASBOURG I – LOUIS PASTEUR

Année universitaire 2007/2008

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

Frédéric DAUSSIN

Le 23 novembre 2007

**Effets d'un entraînement en endurance à charge constante,
à charge variable ou à haute intensité chez l'homme :
étude intégrative du systémique au cellulaire**

Membres du jury :

Directeur : M. François Piquard, Docteur, Strasbourg

Rapporteur interne : M. Philippe Vautravers, Professeur, Strasbourg

Rapporteur externe : M. Philippe Obert, Professeur, Avignon

Rapporteur externe : M. François Péronnet, Professeur, Montréal, Canada

Examineur : M. Ruddy Richard, Docteur, Strasbourg

UNIVERSITE DE STRASBOURG I – LOUIS PASTEUR

Année universitaire 2007/2008

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

Frédéric DAUSSIN

Le 23 novembre 2007

**Effets d'un entraînement en endurance à charge constante,
à charge variable ou à haute intensité chez l'homme :
étude intégrative du systémique au cellulaire**

Membres du jury :

Directeur : M. François Piquard, Docteur, Strasbourg

Rapporteur interne : M. Philippe Vautravers, Professeur, Strasbourg

Rapporteur externe : M. Philippe Obert, Professeur, Avignon

Rapporteur externe : M. François Péronnet, Professeur, Montréal, Canada

Examineur : M. Ruddy Richard, Docteur, Strasbourg

Remerciements

A

M. le Professeur Philippe VAUTRAVERS,

M. le Professeur Philippe OBERT,

M. le Professeur François PERONNET,

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de rapporter ce travail.

François PIQUARD, notre éloignement géographique ne nous a pas permis de nous côtoyer au quotidien mais à chaque fois que j'en ai eu besoin tu m'as ouvert ta porte chaleureusement. Ton œil extérieur m'a permis de me poser les bonnes questions et ton savoir faire statistique m'a, plus d'une fois, ôté une épine du pied.

Ruddy RICHARD, c'est avec toi que j'ai passé le plus temps et que j'ai forgé mon esprit scientifique depuis mon DEA. Après des débuts chaotiques, notre protocole « sédentaire » nous a permis de vivre en commun une belle aventure, tant humaine que scientifique. Elle m'a amené beaucoup de satisfactions personnelles. Notre collaboration m'a amené récemment jusqu'à Montréal, où tu m'as permis de découvrir un nouvel environnement scientifique qui, je l'espère, nous permettra de continuer notre route ensemble. Pour l'ensemble de l'œuvre, Merci !

Bernard GENY, je te remercie de m'avoir accueilli dans ton service et de m'avoir permis d'assouvir ma passion scientifique. Tu m'as apporté des réponses à chaque fois que je t'ai sollicité et nos discussions ont aguerri mon esprit critique.

Joffrey ZOLL, nos routes au sein de l'UPEBM ne sont pas croisées suffisamment à mon goût. Ton retour a constitué un premier post-doc à travers l'apprentissage de nouvelles techniques au combien nécessaires dans la recherche actuelle. C'est au fil de nos discussions, de nos échanges quotidiens que j'ai développé mon bagage mitochondrial, qui deviendra peut-être mon fond de commerce !!!

Stéphane, Elodie, c'est à votre contact, à l'UPEBM, que j'ai débuté ma carrière scientifique. Je vous dois l'apprentissage de la respiration mitochondriale et des cinétiques. Vos parcours me donnent l'envie de poursuivre l'aventure vers un projet de post-doc qui, je l'espère aboutira.

Valérie, Bertrand, Benoît et Jamal, vous avez tous contribué à l'ambiance du labo. Même si nos thématiques ne sont pas forcément communes, vous étiez toujours là pour me dépanner et répondre à mes questions.

L'ensemble des techniciennes et médecins du service, Steph, Jacques, Eve, François, Christine, Sabine, Claudie, Martine, Denise, Agnès, Nicole, Audrey, Isabelle, grâce à vous, pas moins de 170 tests se sont déroulés dans la bonne humeur. Je me souviendrai également des longues discussions, à propos de tout et de rien, dans le couloir.

Nos très chers sujets : sans vous, rien n'aurait été possible. Je me rappellerai longtemps du sourire avec lequel vous arriviez aux EFR et des légendaires séances d'entraînement au cours desquelles on refaisait le monde. Je vous adresse un grand MERCI !!!

L'UFRSTAPS, et notamment, Laurence et Yao, c'est par votre intermédiaire que j'ai pu me « froter » aux étudiants pendant mes deux années d'ATER. La grande souplesse d'organisation que vous avez mise en place m'a permis de mener de front l'enseignement et la recherche. Je tiens à vous remercier chaleureusement.

A ma famille, mes parents, mes sœurs, je souhaite vous remercier tout particulièrement car vous m'avez toujours soutenu, tant moralement que financièrement. Vous avez accepté mes différents changements d'orientation qui m'ont permis finalement d'écrire cette thèse, pour ma plus grande satisfaction. Maman, je te remercie pour toutes les fautes d'orthographe que tu as traquées dans mes mémoires, normalement, c'est le dernier !

Florine, cela fait plus de quatre ans que l'on s'est rencontré et que je vis des moments merveilleux avec et grâce à toi. Tu m'as toujours encouragé dans mes choix qui nous ont souvent éloignés. J'adresse également un grand merci à tes parents qui ont toujours été présents.

**A mes parents,
A Flo,**

RESUME

L'entraînement en endurance fait partie des programmes de réhabilitation des patients atteints de maladies chroniques, il améliore les performances aérobies et participe à l'amélioration de la qualité de vie des ces patients. Deux modalités sont principalement utilisées : l'entraînement en intervalles, associé à des variations d'intensité au cours de la séance, et l'entraînement à charge constante dont l'intensité reste identique pendant toute la durée de la séance. Ce travail de thèse se propose dans une première partie de comparer les effets de ces deux modalités d'entraînement à travers une étude intégrée, allant des paramètres systémiques aux paramètres musculaires. Pour cela, seize sujets ont effectué les deux modalités d'entraînement ayant comme caractéristiques principales : une durée d'entraînement et une dépense énergétique identiques. Les deux modalités permettent l'amélioration des performances aérobies à travers des adaptations différentes. L'entraînement en intervalles induit des adaptations centrales (débit cardiaque) et périphériques (densité capillaire et capacités oxydatives musculaires) tandis que l'entraînement à charge constante augmente de manière plus importante la densité capillaire. L'effet de l'entraînement en endurance à haute intensité, sur la fonction mitochondriale, est étudié à travers la comparaison de populations de sédentaires et de sportifs de haut niveau. Les sportifs en endurance présentent des modifications à la fois quantitatives et qualitatives de la fonction mitochondriale, en particulier en majorant leur capacité à oxyder les hydrates de carbone. Ces résultats contribuent à la compréhension des mécanismes adaptatifs en réponse à l'entraînement en endurance. Ils favoriseront d'une part l'amélioration de la prescription de l'entraînement en endurance, en ciblant la modalité d'entraînement en fonction des pathologies, et d'autre part l'amélioration de la qualité de vie des patients atteints de maladies chroniques.

ABSTRACT

Endurance training is currently used in chronic diseases to improve aerobic performance and quality of life of these patients. Continuous endurance training and interval training are the both modalities used in rehabilitation. In a first part, we compared the effects of these two trainings modalities from systemic to cellular adaptations. Sixteen subjects performed the both trainings modalities which are characterized by same energy expenditure and training duration. Aerobic performance was improved by both trainings modalities throughout different adaptations. Interval training improved central adaptations (cardiac output) and peripheral adaptations (capillary density and mitochondrial function) whereas continuous training enhanced capillary density. In the second part, we compared sedentary subjects and endurance athletes to determine the effect of endurance training at high intensity on mitochondrial function. Athletes presented quantitative and qualitative modifications toward a greater capacity to oxidize carbohydrate. Our results improve the knowledge about the endurance training induced adaptation. They favor the endurance training prescriptions for chronic disease patients and allow to choose the training modality in function of patient's disease. Finally, it will improve quality of life of chronic disease patients.

SOMMAIRE

LISTE DES PUBLICATIONS FAISANT L'OBJET DE CETTE THESE	- 12 -
LISTE DES PUBLICATIONS NE FAISANT PAS L'OBJET DE CETTE THESE	- 12 -
PRINCIPALES ABREVIATIONS	- 13 -
LISTE DES FIGURES	- 15 -
PREAMBULE	- 16 -
ETAT DES CONNAISSANCES ACTUELLES	- 19 -
CHAPITRE I : DES COMPOSANTES DE L'EQUATION DE FICK AUX DETERMINANTS PHYSIOLOGIQUES DE LA PERFORMANCE	- 20 -
I.1. REPONSES A L'EXERCICE MAXIMAL PROGRESSIF	- 20 -
<i>I.1.1. Notion de consommation maximale d'O₂</i>	- 20 -
<i>I.1.2. Notion de seuils métaboliques</i>	- 22 -
I.1.2.1. Les seuils ventilatoires	- 22 -
I.1.2.2. Les seuils lactiques	- 25 -
<i>I.1.3. Evolution du débit cardiaque</i>	- 25 -
I.1.3.1. Le débit cardiaque et ses composantes	- 25 -
I.1.3.2. Evolution lors d'un effort progressif exhaustif	- 26 -
I.2. LA CAPACITE D'ENDURANCE	- 27 -
<i>I.2.1. Réponses cardio-circulatoires à l'exercice</i>	- 28 -
I.2.1.1. Adaptation à un effort à charge constante	- 28 -
I.2.1.2. Le débit sanguin musculaire	- 29 -
I.2.1.3. L'extraction d'O ₂	- 30 -
I.2.1.4. Les cinétiques de consommation d'O ₂	- 31 -
I.2.1.4.1. Evolution temporelle lors d'un exercice modéré	- 32 -
I.2.1.4.2. Exercice difficile	- 33 -
I.2.1.4.3. La notion de déficit en O ₂	- 35 -
I.2.1.4.4. Mécanismes régulateurs de l'ajustement de $\dot{V}O_2$	- 35 -
I.3. FACTEURS LIMITANTS DE LA VO ₂ MAX	- 36 -
<i>I.3.1. Les facteurs centraux</i>	- 37 -
I.3.1.1. Le système pulmonaire	- 37 -
I.3.1.2. Le débit cardiaque	- 37 -
I.3.1.3. Le transport d'O ₂	- 38 -
<i>I.3.2. Les facteurs musculaires</i>	- 38 -
I.3.2.1. La diffusion périphérique	- 38 -
I.3.2.2. Les capacités oxydatives musculaires et les enzymes	- 39 -
I.3.2.3. La densité capillaire	- 39 -
<i>I.3.3. Facteurs limitants de l'exercice maximal</i>	- 40 -
I.3.3.1. La théorie du symmorphisme	- 40 -

I.3.3.2. Limitation centrale ou périphérique	- 40 -
I.4. INFLUENCE DES MALADIES CHRONIQUES SUR LA PERFORMANCE AEROBIE.....	- 41 -
I.4.1. <i>L'insuffisance cardiaque</i>	- 42 -
I.4.1.1. Définition	- 42 -
I.4.1.2. Altération de la capacité d'exercice.....	- 42 -
I.4.2. <i>La broncho-pneumopathie chronique obstructive</i>	- 42 -
I.4.1.1. Définition	- 42 -
I.4.1.2. Altération de la capacité d'exercice.....	- 43 -
CHAPITRE II : LE MUSCLE SQUELETTIQUE ET PRODUCTION D'ENERGIE	- 44 -
II.1. LA MITOCHONDRIE	- 44 -
II.1.1. <i>Structure</i>	- 44 -
II.1.1.1. La membrane externe.....	- 45 -
II.1.1.2. L'espace inter-membranaire.....	- 45 -
II.1.1.3. La membrane interne	- 45 -
II.1.2. <i>Distribution dans la cellule musculaire</i>	- 46 -
II.2. FONCTIONNEMENT DE LA MITOCHONDRIE	- 46 -
II.2.1. <i>La chaîne de transport des électrons</i>	- 46 -
II.2.2. <i>La phosphorylation oxydative</i>	- 47 -
II.2.3. <i>La production de radicaux libres oxygénés</i>	- 48 -
II.3. LES SUBSTRATS ENERGETIQUES DE LA MITOCHONDRIE	- 49 -
II.3.1. <i>La voie du pyruvate</i>	- 49 -
II.3.2. <i>La voie des acides gras</i>	- 50 -
II.3.2.1. Le stockage	- 50 -
II.3.2.2. Transfert du cytosol dans la mitochondrie	- 50 -
II.3.2.3. La β -oxydation.....	- 51 -
II.3.3. <i>La navette Malate/Aspartate</i>	- 52 -
II.3.4. <i>La navette du Glycérol-3-Phosphate</i>	- 53 -
II.4. LE TRANSFERT D'ENERGIE : LE SYSTEME CREATINE KINASE	- 54 -
II.5. UTILISATION DES SUBSTRATS AU COURS DE L'EXERCICE.....	- 54 -
II.5.1. <i>Rôle de l'intensité de l'exercice</i>	- 55 -
II.5.2. <i>Rôle de la durée de l'exercice</i>	- 55 -
II.5.3. <i>Facteur influençant l'utilisation de substrats</i>	- 56 -
III.5.3.1. La notion de point de croisement.....	- 56 -
III.5.3.2. Influence de la typologie musculaire	- 56 -
III.5.3.3. Impact des régimes alimentaires	- 57 -
CHAPITRE III : REPONSES SYSTEMIQUES ET CELLULAIRES A LA STIMULATION PHYSIQUE-	59 -
III.1. DEFINITION DU STIMULUS ASSOCIE A L'ENTRAINEMENT	- 59 -
III.1.1. <i>La stimulation métabolique</i>	- 60 -
III.1.2. <i>La stimulation mécanique</i>	- 60 -

III.1.3. Modulation de l'adaptation en réponse à l'exercice	- 61 -
III.2. ADAPTATIONS CARDIORESPIRATOIRES LORS DE L'ENTRAÎNEMENT EN ENDURANCE	- 62 -
III.2.1. La consommation maximale d'O ₂	- 63 -
III.2.1.1. Influence de l'intensité	- 63 -
III.2.1.2. Influence de la fréquence d'entraînement	- 63 -
III.2.1.3. Influence de la durée.....	- 64 -
III.2.1.4. Influence du niveau basal	- 64 -
III.2.1.5. Comparaison de modalités d'entraînement	- 64 -
III.2.2. Le débit cardiaque	- 65 -
III.2.2.1. Modification du VES par l'entraînement	- 65 -
III.2.2.2. Modification de la fréquence cardiaque par l'entraînement	- 66 -
III.2.3. Les seuils ventilatoires et lactiques	- 66 -
III.2.4. Les cinétiques d'ajustement à l'exercice	- 67 -
III.2.4.1. Modification de la composante rapide par l'entraînement	- 67 -
III.2.4.2. Modification de la composante lente par l'entraînement	- 67 -
III.3. REPONSES MUSCULAIRES A L'ENTRAÎNEMENT EN ENDURANCE	- 68 -
III.3.1. Amélioration de l'extraction d'O ₂	- 68 -
III.3.1.1. Amélioration du débit sanguin musculaire	- 68 -
III.3.1.2. Réponses du réseau capillaire à l'entraînement	- 69 -
III.3.2. Modification du phénotype musculaire.....	- 70 -
III.3.2.1. Phénotype contractile.....	- 70 -
III.3.2.2. Phénotype métabolique.....	- 71 -
III.3.3. Utilisation des substrats	- 74 -
III. 4. REHABILITATION ET MALADIES CHRONIQUES	- 75 -
OBJECTIFS SCIENTIFIQUES	- 77 -
MATERIELS ET METHODES	- 82 -
I. 1 ^{ERE} ETUDE : MODIFICATIONS DES PHENOTYPES CONTRACTILES ET METABOLIQUES INDUITES PAR DEUX MODES D'ENTRAÎNEMENT, CHEZ LE SUJET SAIN	- 83 -
I.1. LA POPULATION	- 83 -
I.2. SCHEMA GENERAL DU PROTOCOLE	- 83 -
I.3. INCLUSION DANS L'ETUDE	- 85 -
I.4 EXERCICE ET ENTRAÎNEMENT	- 86 -
I.4.1. L'ergocycle.....	- 86 -
I.4.2. Le test incrémental	- 86 -
I.4.3. Le test de temps de maintien.....	- 87 -
I.4.4. Le protocole d'entraînement	- 87 -
I.5. PARAMETRES DETERMINES DURANT LES TESTS.....	- 89 -
I.5.1. La mesure des échanges gazeux.....	- 89 -
I.5.2. La mesure du débit cardiaque.....	- 89 -
I.5.3. La différence artérioveineuse en O ₂	- 90 -
I.5.4. La fréquence cardiaque.....	- 90 -

I.5.5. La saturation en O ₂	- 90 -
I.5.6. Détermination des cinétiques.....	- 90 -
I.5.7. Prélèvements réalisés.....	- 91 -
I.6. LA RESPIRATION MITOCHONDRIALE.....	- 91 -
I.6.1. Mesure de la respiration mitochondriale.....	- 91 -
I.6.2. La technique de la respiration mitochondriale sur fibres perméabilisées.....	- 92 -
I.6.3. Le principe de la polarographie.....	- 93 -
I.6.4. Les solutions de respiration.....	- 94 -
I.6.5. Les protocoles de mesure : détermination des capacités maximales.....	- 94 -
I.7. MESURE DE LA CAPILLARISATION.....	- 95 -
II. 2 ^{EME} ETUDE : ETUDE DE LA PLASTICITE MITOCHONDRIALE A TRAVERS LA COMPARAISON DE SUJETS SEDENTAIRES ET D'ATHLETES.....	- 96 -
II.1. LA POPULATION.....	- 96 -
II.2. LE PROTOCOLE.....	- 96 -
II.3. MESURE DE LA RESPIRATION MITOCHONDRIALE.....	- 96 -
II.3.1. Détermination des capacités maximales.....	- 96 -
II.3.2. Etude des complexes de la chaîne respiratoire.....	- 97 -
II.3.3. Utilisation des substrats.....	- 98 -
RESULTATS.....	- 99 -
I. 1 ^{ERE} ETUDE : COMPARAISON DE DEUX MODALITES D'ENTRAINEMENT CHEZ LE SUJET SEDENTAIRE.....	- 100 -
I.1. EFFETS SUR LA PERFORMANCE AEROBIE.....	- 100 -
I.1.1. Présentation.....	- 100 -
I.1.2. Résultats.....	- 100 -
I.2. EFFETS SUR LA FONCTION MITOCHONDRIALE ET SA RELATION AVEC LA PERFORMANCE AEROBIE.....	- 109 -
I.2.1. Présentation.....	- 109 -
I.2.2. Résultats.....	- 109 -
II. 2 ^{EME} ETUDE : INFLUENCE DE L'ENTRAINEMENT A HAUTE INTENSITE SUR LES CAPACITES MITOCHONDRIALES A UTILISER LES DIFFERENTS SUBSTRATS.....	- 138 -
II.1. PRESENTATION.....	- 138 -
II.2. RESULTATS.....	- 138 -
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	- 160 -
DISCUSSION GENERALE.....	- 161 -
I.1. COMPARAISON DE DEUX MODALITES D'ENTRAINEMENT CHEZ LE SUJET SEDENTAIRE.....	- 162 -
I.1.1. Effets sur la performance aérobie.....	- 162 -
I.1.2. Effets sur la fonction mitochondriale et sa relation avec la performance.....	- 165 -
I.2. COMPARAISON DE LA FONCTION MITOCHONDRIALE : SEDENTAIRES VS. SPORTIFS.....	- 168 -
I.2.1. Capacité d'oxydation des substrats.....	- 168 -
I.2.2. Adaptation des complexes de la chaîne respiratoire.....	- 169 -

PERSPECTIVES	- 170 -
II.1. ADAPTATIONS, ENTRAINEMENT ET PERFORMANCE AEROBIE	- 170 -
II.2. REGULATION DE LA FONCTION MITOCHONDRIALE	- 171 -
II.3. ROLE DES RADICAUX LIBRES OXYGENES	- 172 -
CONCLUSION GENERALE	- 173 -
BIBLIOGRAPHIE.....	- 174 -

Liste des publications faisant l'objet de cette thèse

F.N. Daussin, E. Ponsot, S.P. Dufour, E. Lonsdorfer-Wolf, S. Doutreleau, B. Geny, F. Piquard, R. Richard. *Improvement of VO_{2max} by cardiac output and oxygen extraction adaptation during intermittent versus continuous endurance training.*

Eur J Appl Physiol. 2007 Oct; 101(3): 377-83.

F.N. Daussin, J. Zoll, S.P. Dufour, E. Ponsot, E. Lonsdorfer-Wolf, S. Doutreleau, B. Mettauer, F. Piquard, B. Geny, R. Richard. *Influence of level of training intensity in the adaptations of mitochondrial function in sedentary: relation to the aerobic performance improvements.*

En révision au Journal of Physiology

F.N. Daussin, J. Zoll, E. Ponsot, S.P. Dufour, S. Doutreleau, E. Lonsdorfer, R. Ventura-Clapier, B. Mettauer, F. Piquard, B. Geny, R. Richard. *Training at high exercise intensity preferentially promotes mitochondrial carbohydrate oxidation pathway in skeletal muscle.*

Soumis au Journal of Applied Physiology

Liste des publications ne faisant pas l'objet de cette thèse

O. Rouyer, J. Zoll, F. Daussin, C. Damge, P. Helms, S. Talha, L. Rasseneur, F. Piquard, B. Geny. *Effect of ACE inhibition on skeletal muscle oxidative function and exercise capacity in streptozotocin-induced diabetic rats.*

Exp Physiol. 2007 Aug 3

M. Lagouge, C. Argmann, Z. Gehart-Hines, H. Meziane, C. Lerin, F. Daussin, N. Messadeq, J. Milne, P. Lambert, P. Elliott, B. Geny, M. Laakso, P. Puigserver, J. Auwerx. *Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha.*

Cell. 2006 Dec 15;127(6):1109-22.

Principales abréviations

ADP : adénosine diphosphate

ATP : adénosine triphosphate

BPCO : broncho-pneumopathie chronique obstructive

CaO₂ : contenu artériel en O₂

CO₂ : dioxyde de carbone

C \bar{v} O₂ : contenu du sang veineux mêlé en O₂

D_{a- \bar{v}} O₂ : différence artérioveineuse en O₂

H⁺ : ions hydrogène

[Hb] : concentration sanguine en Hb

H₂O₂ : hydrogène peroxyde

HCO₃⁻ : ions bicarbonates

IC : insuffisance cardiaque

[La] : acide lactique

mtADN : AND mitochondrial

O₂ : oxygène

O₂⁻• : anion superoxyde

OH• : hydroxyle

PCr : phosphocréatine

PDH : pyruvate déshydrogénase

PMT : puissance maximale tolérée

PO₂ : pression partielle en O₂

P_{SV1} : puissance mécanique associée au premier seuil ventilatoire

Q̇ : débit cardiaque

Q̇_{musc} : débit sanguin musculaire

QR : rapport rejet de CO₂ / consommation d'O₂

RLO : radicaux libres oxygénés, dénommé ROS en anglais (Reactive Oxygen Species)

SV₁ : premier seuil ventilatoire

SV₂ : second seuil ventilatoire

T_{lim} : Durée de l'épreuve de temps de maintien

ṠCO₂ : rejet de dioxyde de carbone

Ṡ_E : ventilation

VES : volume d'éjection systolique

V_{max} : vitesse de respiration maximale des fibres

V₀ : vitesse de respiration des fibres perméabilisée au repos

$\dot{V}O_2$: consommation d'oxygène (quantité d'O₂ consommée)

$\dot{V}O_{2max}$: consommation maximale d'oxygène

$\dot{V}O_{2pic}$: pic de débit d'oxygène

Liste des figures

Figure 1, p.24 : évolution des paramètres ventilatoires et sanguins lors d'un exercice progressif amenant à l'épuisement.

Figure 2, p.27 : présentation des différents modèles décrivant l'évolution du volume d'éjection systolique au cours d'un effort progressif.

Figure 3, p.29 : ajustements musculaires et pulmonaires lors du passage d'un état de repos à un exercice à charge constante.

Figure 4, p.33 : cinétiques d'ajustement de la consommation d'oxygène lors d'un exercice modéré.

Figure 5, p.34 : cinétiques d'ajustement de la consommation d'oxygène lors d'un exercice intense associé à une composante lente.

Figure 6, p.47 : description de la phosphorylation oxydative.

Figure 7, p.51 : transport des acides gras à l'intérieur de la mitochondrie.

Figure 8, p.52 : navette malate/aspartate au sein de la cellule musculaire.

Figure 9, p.53 : transport du glycerol-3-phosphate du sarcoplasme vers la mitochondrie.

Figure 10, p.71 : description des événements à l'origine de la biogenèse mitochondriale.

Figure 11, p.84 : protocole d'étude de la comparaison des modalités d'entraînement.

Figure 12, p.88 : construction des séances d'entraînement et évolution de la charge d'entraînement avec le temps.

Figure 13, p.92 : protocole d'étude de la respiration mitochondriale.

Figure 14, p.95 : détermination des capacités oxydatives musculaires maximales.

Figure 15, p.97 : étude de l'activité des complexes de la chaîne respiratoire.

Figure 16, p.108 : effet de l'entraînement sur la relation débit cardiaque – différence artérioveineuse en O_2 .

Figure 17, p.137 : relation entre les améliorations des capacités oxydatives musculaires et la consommation maximale d' O_2 .

Figure 18, p.159 : comparaison de la capacité d'oxydation des différents substrats énergétiques : athlètes vs. sédentaires.

Préambule

Pour partie, l'expression du génome est régulée par l'activité physique. Notre phénotype diffère fortement de celui de nos ancêtres du paléolithique qui présentaient une forte activité physique et conditionnaient leur survie à travers la pratique de la chasse. Aussi, l'inactivité actuelle, liée à l'évolution de notre société, entraîne une diminution de l'expression génique (Perusse & Bouchard, 1999; Booth & Vyas, 2001). Aujourd'hui, notre génome est mal adapté à notre faible activité. Il est associé à une expression anormalement basse de nos gènes qui se manifeste à travers le développement de maladies chroniques (Booth *et al.*, 2002). De ce fait, la sédentarité peut être assimilée à une maladie chronique, qui, à ce titre, entraîne une diminution des capacités fonctionnelles. Afin d'améliorer la qualité de vie de ces personnes, des programmes de réhabilitation se sont développés, et différentes modalités ont été proposées (Geny *et al.*, 1996; Hill, 2006). Bien que les améliorations dépendent de la durée, de l'intensité et de la fréquence des entraînements (Jones & Carter, 2000), l'utilisation préférentielle de l'entraînement intermittent ou continu est toujours soumise au débat.

L'amélioration des capacités fonctionnelles provient soit d'une amélioration centrale (systèmes impliqués dans la convection et le transport de l'O₂), soit d'une amélioration musculaire. Si plusieurs études ont comparé les effets d'entraînement intermittent *vs.* continu dans l'amélioration des capacités fonctionnelles (Shephard, 1968; Cunningham *et al.*, 1979; Seals *et al.*, 1984; Geny *et al.*, 1996), aucune n'a utilisé, pour les deux modalités, des entraînements ayant la même dépense énergétique et une durée d'entraînement identique. Ainsi, il est difficile de déterminer quelles sont les adaptations spécifiques liées à la modalité d'entraînement. Or, ces connaissances permettraient de cibler la prescription du réentraînement en fonction des pathologies.

Chez les personnes sédentaires, l'entraînement en endurance provoque des adaptations entraînant l'amélioration des performances aérobies et notamment de la consommation maximale d'O₂ ($\dot{V}O_{2max}$). Il est défini chez la personne sédentaire que le facteur limitant est la capacité musculaire à produire de l'énergie de manière aérobie. Or, les mitochondries sont les structures cellulaires qui déterminent la consommation d'O₂ au niveau du muscle et sont la source d'énergie aérobie (Hoppeler & Fluck, 2002). La biogenèse mitochondriale est liée à l'augmentation de la demande énergétique créée lors de la contraction musculaire et est en relation avec l'intensité et la durée (Hood, 2001). L'exercice musculaire entraîne une

perturbation de l'homéostasie cellulaire ; de plus, il est possible que l'intensité de cette perturbation influence la biogenèse mitochondriale. Cependant, l'implication des mécanismes à l'origine reste à déterminer. Le développement du réseau capillaire participe à l'amélioration des capacités oxydatives musculaires. Tout comme la biogenèse mitochondriale, il est possible que le niveau de stress cellulaire, induit par l'exercice, influence le développement des capillaires.

Nous pouvons observer, pour les sports aérobies, des $\dot{V}O_{2\max}$ et des capacités d'endurance bien supérieures chez les athlètes de haut niveau, comparées à celles de sédentaires. Ces différences s'expliquent par de plus grandes capacités oxydatives musculaires chez les athlètes (Zoll *et al.*, 2003). Les carbohydrates et les acides gras sont les substrats oxydés dans la mitochondrie et leur utilisation varie avec l'intensité de l'exercice (Brooks, 1997; Coggan, 1997) mais aussi avec le niveau d'entraînement (Coggan *et al.*, 1990; Jeukendrup *et al.*, 1997). Avec l'entraînement, les athlètes développent leur capacité à utiliser les acides gras ; ainsi, l'énergie d'origine lipidique est plus importante pour une même intensité absolue chez le sportif (Coggan *et al.*, 1990; Coggan *et al.*, 1995). Toutefois, quel que soit le niveau d'aptitude physique de la personne, à haute intensité, l'utilisation des carbohydrates prime. Selon le type d'entraînement, il est donc possible qu'il y ait une adaptation mitochondriale dans la capacité à utiliser les substrats afin de répondre au mieux à la demande énergétique au cours de l'effort.

La dégradation de ces substrats fournit des équivalents réducteurs (NADH et FADH₂), qui sont oxydés par la chaîne de respiration et permettent de créer un gradient protonique utilisé, à l'origine, par l'ATP synthase pour fabriquer l'ATP. L'optimisation des ratios entre les différentes enzymes, tout au long de la chaîne respiratoire, permet un meilleur contrôle du flux d'énergie issu de la respiration mitochondriale (Gnaiger *et al.*, 1998). Le développement des capacités oxydatives maximales, et donc la production d'équivalents réducteurs, peuvent nécessiter une adaptation qualitative des mitochondries afin de maintenir un important flux d'énergie.

Le présent travail de thèse s'inscrit dans une logique d'amélioration de la prescription du réentraînement. Il vise à déterminer la part des adaptations centrales et périphériques à l'origine de l'amélioration de la performance et à caractériser les modifications de la fonction mitochondriale induites par la pratique intensive de l'exercice physique. Deux études

constituent ce travail : une première compare deux modalités d'entraînement permettant la détermination des adaptations induites par chaque modalité ainsi que leur contribution dans l'amélioration des performances aérobies. Une seconde étude compare des sujets sédentaires et des sportifs de haut niveau en endurance et vise à caractériser l'influence de la pratique sportive intensive sur la fonction mitochondriale.

Pour introduire ces deux études dans leur contexte théorique, un premier chapitre sera consacré aux déterminants de la performance aérobique. Un second chapitre détaillera le rôle de la cellule musculaire dans la production d'énergie. Enfin, un troisième chapitre présentera l'influence de l'entraînement en endurance sur les paramètres centraux et périphériques.

ETAT DES CONNAISSANCES ACTUELLES

CHAPITRE I : DES COMPOSANTES DE L'EQUATION DE FICK AUX DETERMINANTS PHYSIOLOGIQUES DE LA PERFORMANCE

La consommation d'O₂ ($\dot{V}O_2$) reflète la quantité d'énergie utilisée dans la réalisation d'un exercice ou pour assurer les besoins métaboliques. Au repos, en équilibre homéothermique, la consommation basale est de l'ordre de 3,5 à 5 mL·kg⁻¹·min⁻¹ qui correspond à l'énergie nécessaire pour assurer les fonctions basales vitales. A l'exercice, cette $\dot{V}O_2$ peut être multipliée par 10 voire 15 chez des athlètes de haut niveau. Au cours d'un effort constant, la $\dot{V}O_2$ augmente progressivement pour se stabiliser et permettre un apport d'O₂ en adéquation avec les besoins énergétiques de l'exercice. La mesure de son évolution au cours d'un effort constant permet de caractériser l'adaptation d'un sujet à l'effort. L'homme est soumis au principe de conservation de la masse ; ce qui a permis à A. Fick de déterminer la $\dot{V}O_2$ à partir de la mesure de 2 facteurs : $\dot{V}O_2 = \dot{Q} \times (CaO_2 - C\bar{v}O_2)$ (Fick, 1870). \dot{Q} représente le débit cardiaque et est la composante centrale de la $\dot{V}O_2$ tandis que $(CaO_2 - C\bar{v}O_2)$ correspond à la différence de contenu en O₂ entre le sang artériel et le sang veineux mêlé, traduisant la capacité périphérique d'extraction de l'O₂. Ce premier chapitre permettra de détailler l'évolution de ces différents paramètres au cours d'un exercice maximal progressif et d'un exercice à charge constante, mais aussi de caractériser les facteurs limitants de l'effort.

I.1. REPONSES A L'EXERCICE MAXIMAL PROGRESSIF

I.1.1. Notion de consommation maximale d'O₂

Lorsque qu'un sujet passe de l'état de repos à celui d'exercice, sa consommation d'O₂ augmente de manière proportionnelle à l'intensité de l'effort. Les travaux de H.V. Hill (Hill & Lupton, 1923) ont démontré qu'il existait une limite à la consommation d'O₂ lors d'un exercice (chez l'homme), définie comme la consommation maximale d'oxygène ou $\dot{V}O_{2\max}$. Il est admis que le $\dot{V}O_{2\max}$ est la meilleure mesure pour déterminer la limite fonctionnelle du système cardiovasculaire (Rowell, 1974). La $\dot{V}O_{2\max}$ se détermine lors d'une épreuve d'effort à charge croissante amenant le sujet à épuisement ; elle correspond à la valeur obtenue lorsque le sujet atteint l'épuisement ou plus précisément lorsque la consommation d'O₂ reste stable malgré l'augmentation de l'intensité (Howley *et al.*, 1995). Dans ce cas, on observe un

plateau de $\dot{V}O_2$ malgré l'augmentation de la charge mécanique (Howley *et al.*, 1995). D'autres indices physiologiques permettent de définir en complément la sollicitation maximale : un quotient respiratoire (QR : rapport rejet de CO_2 / consommation d' O_2 ou $\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$) supérieur ou égal à 1,1, une fréquence cardiaque maximale ($F_{c_{max}}$) supérieure à 90% de la $F_{c_{max}}$ théorique ($220 - \text{âge}$) et une lactatémie ($[La]$) maximale supérieure à 8 $mmol \cdot L^{-1}$ (Howley *et al.*, 1995). Ces critères permettent de définir une $\dot{V}O_{2_{max}}$ en absence de plateau, phénomène fréquent chez les athlètes de haut niveau en endurance (Doherty *et al.*, 2003). Chez le sujet déconditionné, l'arrêt de l'exercice peut survenir sans l'apparition de l'ensemble de ces critères, on parle alors de pic $\dot{V}O_2$ ($\dot{V}O_{2_{pic}}$).

Les valeurs obtenues pour un même individu sont exercice-dépendant et varient en fonction de la masse musculaire mise en jeu. Ainsi, la $\dot{V}O_{2_{max}}$ obtenue lors d'un test de course à pied sera supérieure à celle mesurée sur ergocycle. De même, les tests sollicitant uniquement les muscles des membres supérieurs sont associés à des $\dot{V}O_{2_{max}}$ plus faibles que celles mesurées sur les membres inférieurs (Taylor *et al.*, 1955; Hermansen & Saltin, 1969). Dans des conditions standardisées, il est possible de comparer des sujets entre eux. Exprimée en $L \cdot m^{-1}$, une $\dot{V}O_{2_{max}}$ supérieure traduit une plus grande utilisation du métabolisme aérobie alors qu'une valeur supérieure exprimée en $mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$ traduit une capacité de production d'énergie aérobie supérieure.

Les valeurs maximales relevées atteignent 75 $mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$ chez des cyclistes professionnels (Fernandez-Garcia *et al.*, 2000) et les plus grandes valeurs, observées chez des skieurs de fond, sont supérieures à 80 $mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$ (Rusko, 1992). Hormis l'entraînement, le sexe et l'âge sont les principales variables influençant le $\dot{V}O_{2_{max}}$. Sir Robinson (Robinson, 1938) a été le premier à mettre en évidence une diminution de la $\dot{V}O_{2_{max}}$ de 10% par décades. La fréquence cardiaque (F_c) et le volume d'éjection systolique (VES) sont les variables centrales responsables de cette diminution (Astrand, 1973; Hagberg *et al.*, 1985). D'autre part, la diminution de la masse musculaire, adjointe à une augmentation de la masse grasse avec l'âge, représentent les variables périphériques associées dans la baisse de la $\dot{V}O_{2_{max}}$ (Toth *et al.*, 1994). Les femmes présentent des valeurs maximales de $\dot{V}O_{2_{max}}$ inférieures à celles mesurées chez les hommes. Cela s'explique principalement par une quantité totale d'hémoglobine inférieure (Kjellberg *et al.*, 1949) et une proportion de tissu adipeux plus importante (Sparling & Cureton, 1983).

I.1.2. Notion de seuils métaboliques

L'évolution des variables ventilatoires n'est pas linéaire avec l'augmentation d'intensité lors d'un exercice à charge progressivement croissante. On observe, dans ces relations, des ruptures que l'on assimile au terme de seuils. Ces derniers sont associés à une intensité à partir de laquelle des modifications physiologiques apparaissent. La détermination de ces seuils permet de caractériser de manière indirecte le niveau de performance aérobie d'un sujet.

I.1.2.1. Les seuils ventilatoires

L'analyse de l'évolution de la ventilation (\dot{V}_E) au cours d'un effort à charge croissante permet de mettre en évidence deux seuils ventilatoires (figure 1). Le premier seuil, que l'on nommera SV_1 dans la suite de l'exposé, se définit par un décrochement simultané de \dot{V}_E et $\dot{V}CO_2$ (Beaver *et al.*, 1986). La terminologie pour caractériser ce seuil varie en fonction de la méthode de mesure : ainsi Wasserman *et al.* (Wasserman *et al.*, 1973) le nomment seuil anaérobie tandis que Kinderman *et al.* (Kindermann *et al.*, 1979) le qualifient de seuil aérobie. A partir d'une certaine intensité métabolique, le système anaérobie est sollicité et une partie du pyruvate issu de la glycolyse n'entre pas dans la mitochondrie pour y être oxydé, entraînant une production d'acide lactique. La détermination du SV_1 repose sur le postulat que les ions H^+ , associés à la production intracellulaire d'acide lactique, sont tamponnés par les ions bicarbonates (HCO_3^-). Cela induit un excès de CO_2 qui stimule la ventilation en réponse aux variations de la concentration sanguine en CO_2 détectées par les chémorécepteurs centraux et périphériques (Wasserman *et al.*, 1973; Wasserman & Whipp, 1975). A partir de ce seuil, l'équivalent respiratoire en O_2 augmente tandis que le décrochage simultané de \dot{V}_E et $\dot{V}CO_2$ maintient l'équivalent respiratoire en CO_2 stable (Wasserman, 1999). Ce seuil est également mis en évidence par la rupture de pente observée dans la relation $\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$ (Beaver *et al.*, 1986). La puissance associée à ce seuil (pSV_1), exprimée en valeur absolue de $\dot{V}O_2$ ou en pourcentage de $\dot{V}O_{2max}$, est supérieure chez des cyclistes sur route professionnels (70-75% $\dot{V}O_{2max}$) (Lucia *et al.*, 2001) tandis que chez des personnes sédentaires, ce seuil n'atteint et ne dépasse que rarement 60% de $\dot{V}O_{2max}$ (Mahon *et al.*, 1998). Bien que sous maximal, il reflète la capacité d'endurance d'une personne (Peronnet *et al.*, 1987). Chez les

patients atteints de maladies chroniques, le SV_1 est proche de leur capacité maximale et s'explique par l'arrêt précoce de l'exercice, causé par l'apparition de symptômes limitant leur capacité d'exercice.

A partir du modèle décrit par Wasserman (Wasserman, 1982), les concentrations de $[HCO_3^-]$ et de $[La]$ plasmatiques varieraient avec un ratio de 1:1. Cependant, plusieurs données ne sont pas en accord avec cette hypothèse : 1) les HCO_3^- plasmatiques ne représentent que 18% des tampons chimiques et ne peuvent tamponner au mieux que 25% des ions H^+ produits par l'exercice (Hultman & Sahlin, 1980), 2) la diminution de la concentration de HCO_3^- plasmatique n'est pas le reflet de l'augmentation de la concentration de $[La]$ et elle devient progressivement plus faible que l'augmentation de la concentration de $[La]$ (Bouhuys *et al.*, 1966), 3) l'excès du rejet de CO_2 au-dessus du seuil provient des réserves de CO_2 stockées dans le corps sous forme de HCO_3^- (pour revue voir (Peronnet & Aguilaniu, 2006)) et 4) l'augmentation de $\dot{V}CO_2$ suit l'hyperventilation qui favorise le rejet de CO_2 non métabolique en réduisant la pression alvéolaire en CO_2 (Ozcelik *et al.*, 1999). Ainsi, Péronnet et Aguilaniu (Peronnet & Aguilaniu, 2006) expliquent l'augmentation disproportionnée de $\dot{V}CO_2$ à partir du SV_1 par une hyperventilation et une diminution du pH plasmatique qui réduisent la quantité de HCO_3^- dans le corps. Actuellement, le contrôle de la réponse ventilatoire n'est pas expliqué mais les mécanismes entraînant l'augmentation du rejet de CO_2 sont connus.

Le second seuil ventilatoire (SV_2 , Fig. 1) est associé à une seconde hyperventilation avec une augmentation proportionnelle plus importante de \dot{V}_E par rapport à $\dot{V}CO_2$ (Reinhard *et al.*, 1979). Cette hyperventilation s'explique, au niveau cellulaire, par une diminution des stocks en HCO_3^- , dans le cytoplasme et dans le compartiment sanguin, qui induit une augmentation de la quantité d'ions H^+ . Ces ions diffusent progressivement du compartiment musculaire au compartiment sanguin. Cette augmentation stimule les chémorécepteurs périphériques situés dans la crosse aortique et induit une deuxième hyperventilation (Meyer *et al.*, 2005) ; on parle alors de compensation respiratoire. SV_2 se détermine par un deuxième décrochage de la courbe de ventilation ainsi qu'une augmentation de l'équivalent respiratoire en CO_2 . Le maintien d'un pH stable au cours d'un effort incrémental, par injection intraveineuse de bicarbonate de sodium, réduit l'hyperventilation observée en condition standard. Cela démontre que la diminution du pH est un des facteurs responsables de la deuxième hyperventilation. Cependant, d'autres facteurs sont considérés comme partiellement responsables de l'apparition de SV_2 , tels que l'augmentation de la température corporelle, la

stimulation des récepteurs métaboliques locaux ou les récepteurs mécaniques (Meyer *et al.*, 2005). La valeur de SV_2 , exprimée en valeur absolue de $\dot{V}O_2$ ou en pourcentage de $\dot{V}O_{2max}$, est également un des facteurs influant la performance aérobie. Elle peut atteindre 90% chez les sportifs de haut niveau et est inférieure à 80% chez les sédentaires (Meyer *et al.*, 2005).

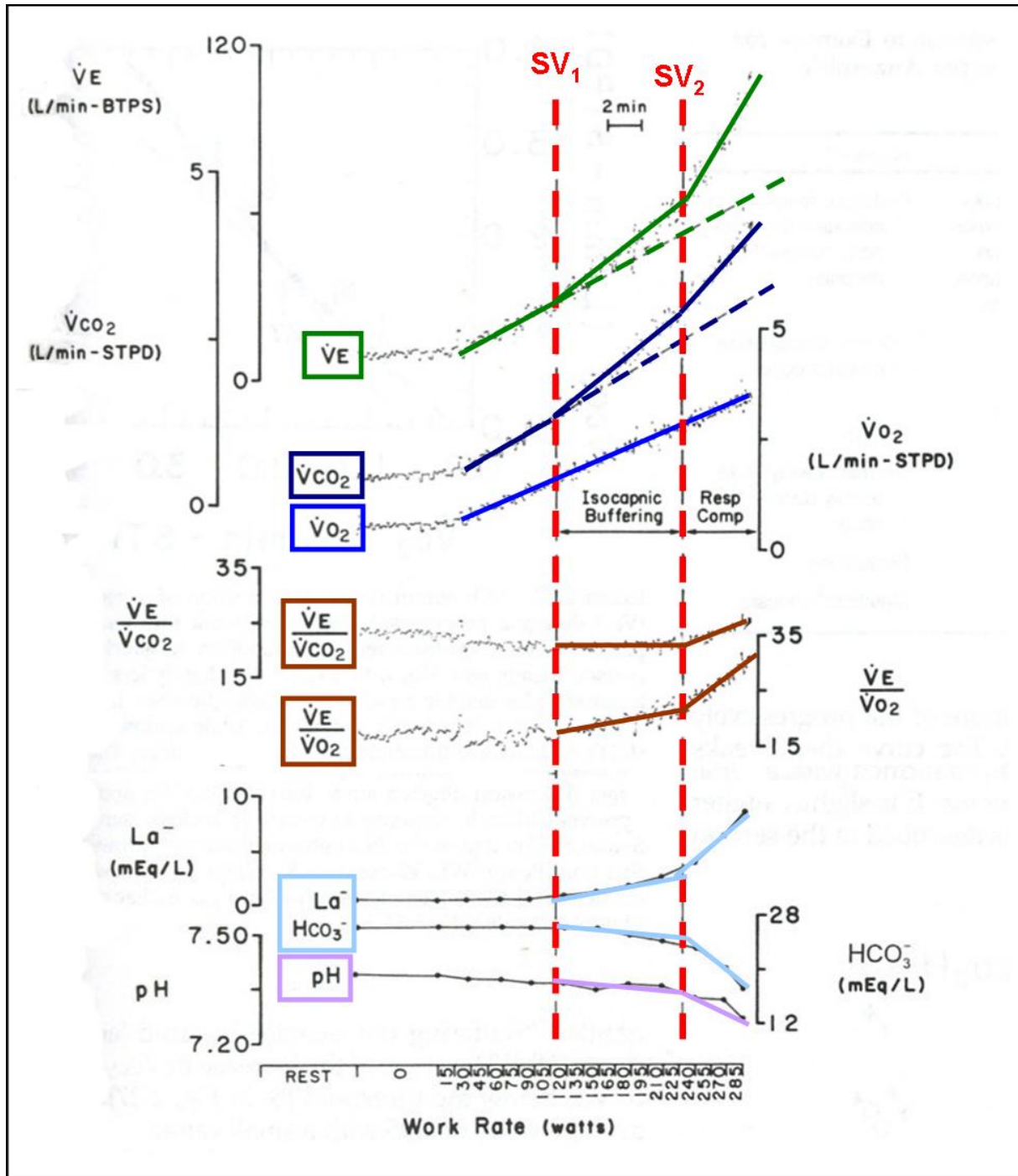


Figure 1 : Seuils ventilatoires 1 et 2. Evolution des paramètres utilisés pour localiser l'apparition des seuils ventilatoires lors d'un exercice progressif maximal. Adapté de Wasserman *et al.* (1999).

I.1.2.2. Les seuils lactiques

La concentration sanguine de lactates, issue de la glycolyse, évolue de manière exponentielle avec l'augmentation de l'intensité d'exercice (Meyer *et al.*, 2005). Différents modèles de seuils lactiques sont définis dans la littérature, à partir d'une multitude de critères de mesure, et décrivent deux catégories. La première caractérise la première augmentation de la concentration sanguine avec l'exercice (SL_1), en comparaison avec la valeur de repos (Meyer *et al.*, 2005). Certains auteurs la définissent par rapport à l'atteinte d'une concentration fixée (2.2 à 3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), d'autres utilisent les tangentes de la courbe de la lactatémie ou l'augmentation de 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ par rapport à la valeur basale (Bosquet 2002). Le second seuil (SL_2) correspond à l'intensité maximale associée à un état stable de la lactatémie (Meyer *et al.*, 2005). Ainsi, une légère augmentation de l'intensité induit une forte augmentation de la lactatémie. Usuellement, ce seuil est associé à une valeur de 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ et est désigné par le terme de seuil anaérobie (Kindermann *et al.*, 1979). Alors qu'il ne devrait y avoir qu'une seule valeur pour chaque seuil, le calcul, à partir de différentes méthodes scientifiques validées et pour un même test, donne des valeurs allant de 79 à 92% de $\dot{V}O_{2\text{max}}$ (Tokmakidis *et al.*, 1998).

I.1.3. Evolution du débit cardiaque

I.1.3.1. Le débit cardiaque et ses composantes

Le sang transporte l' O_2 des poumons aux organes et aux muscles grâce au fonctionnement de la pompe cardiaque. Le sang pauvre en O_2 est amené au poumon par l'activité propulsive du cœur droit *via* la petite circulation, tandis que l'activité du cœur gauche permet l'écoulement du sang dans la grande circulation. La quantité de sang s'écoulant dans le système vasculaire résulte de deux facteurs qui régissent le \dot{Q} : la fréquence de contraction du ventricule gauche ou fréquence cardiaque et le volume de sang éjecté à chaque contraction, nommé volume d'éjection systolique (VES). Ainsi, le débit cardiaque se détermine à partir de la relation suivante :

$$\dot{Q} (\text{L}\cdot\text{min}^{-1}) = Fc (\text{batt}\cdot\text{min}^{-1}) \times \text{VES (mL)} : 1000$$

I.1.3.2. Evolution lors d'un effort progressif exhaustif

Au repos, Fc varie de 50 à 90 bpm et VES évolue de 50 à 100 mL produisant un \dot{Q} d'environ $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ (Astrand *et al.*, 1964). Ces valeurs basales sont influencées par l'âge, le sexe et le niveau d'aptitude physique du sujet (Stolarek *et al.*, 1991). A l'effort, ces paramètres évoluent afin de répondre à l'augmentation de la demande énergétique. Il est généralement considéré que Fc augmente de manière linéaire avec l'intensité de l'exercice (Wasserman *et al.*, 1986; Rowland *et al.*, 2003; Mortensen *et al.*, 2005). Cependant, des études récentes ont mis en évidence l'aspect curviligne de cette relation lorsque le sujet approche son maximum (Vella & Robergs, 2005a; Beck *et al.*, 2006). Beck *et al.* (Beck *et al.*, 2006) ont démontré chez des personnes sédentaires et actives que cette relation curviligne apparaissait chez les sujets ayant la plus grande aptitude physique ($\dot{V}O_{2\text{max}}$). L'évolution du VES avec l'augmentation de l'intensité est, elle aussi, soumise à controverse puisque quatre types de réponses sont proposés dans la littérature (figure 2)(Vella & Robergs, 2005b) : 1) une augmentation linéaire suivie d'un plateau vers 50% de $\dot{V}O_{2\text{max}}$, 2) une augmentation progressive, 3) une augmentation avec un plateau suivie d'une deuxième augmentation et 4) un plateau avec une chute en fin d'exercice. La réponse observée le plus fréquemment est l'augmentation continue du VES avec l'augmentation de l'intensité et une chute du VES précédant la fin de l'exercice (Mortensen *et al.*, 2005; Vella & Robergs, 2005b). Ainsi, le VES des sportifs est supérieur à celui de sujets sédentaires ou actifs et peut dépasser 180 mL (Astrand *et al.*, 1964; Hermansen & Saltin, 1969; Proctor *et al.*, 1998). L'âge tend à réduire le VES maximal à travers une diminution du volume télédiastolique ou par une augmentation du volume télésystolique ou encore par la combinaison des deux (Ogawa *et al.*, 1992; Proctor *et al.*, 1998). De même, les valeurs rapportées chez les femmes sont inférieures à celles des hommes (Astrand *et al.*, 1964; Ogawa *et al.*, 1992; Proctor *et al.*, 1998).

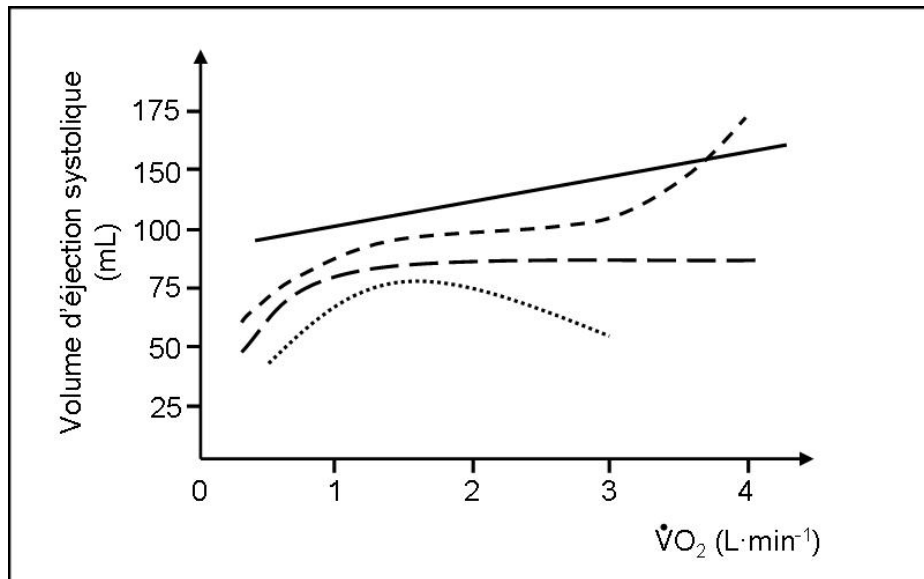


Figure 2 : Evolution du volume d'éjection systolique avec l'augmentation de l'intensité de l'exercice. Quatre types de réponses sont proposés : 1) augmentation progressive (trait continu), 2) plateau (tiret cadratin), 3) augmentation bimodale après un état stable (tiret) et 4) plateau puis diminution progressive (pointillet). Adapté de Vella (2005).

I.2. LA CAPACITE D'ENDURANCE

La capacité d'endurance correspond à la capacité d'un sujet à maintenir une intensité la plus élevée possible sur une certaine durée. La capacité à maintenir une haute fraction de $\dot{V}O_{2\max}$ est dépendante de la capacité des muscles actifs à fournir la puissance métabolique demandée de manière aérobie (Williams & Nute, 1983). Ainsi, la puissance maximale soutenable diminue dans le temps. Différents modèles mathématiques sont utilisés pour déterminer la performance en connaissant la durée ou l'intensité de l'exercice (Bosquet *et al.*, 2002).

Le test consistant à maintenir une certaine intensité jusqu'à épuisement (Tlim), introduit par Monod et Scherer, permet de mesurer la capacité d'endurance d'un sujet. Ce test est dépendant de plusieurs paramètres biologiques : 1) la quantité de fibres musculaires de type I représentative du phénotype oxydatif, 2) la capacité de stockage et d'utilisation des substrats énergétiques et 3) la capacité à dissiper la chaleur (Peronnet *et al.*, 1987; Peronnet & Thibault, 1989). Lorsque ce test est utilisé pour déterminer la capacité d'endurance, l'intensité doit être exprimée en % de $\dot{V}O_{2\max}$ afin d'éliminer l'impact d'autres facteurs pouvant nuire à son interprétation (Bosquet *et al.*, 2002). La durée du test diminue avec l'augmentation de l'intensité de l'exercice mais elle augmente avec le niveau d'aptitude physique. Chez des cyclistes présentant une $\dot{V}O_{2\max}$ similaire, SL_1 exprimé en % de $\dot{V}O_{2\max}$ est un bon reflet du

temps de maintien à 88% de $\dot{V}O_{2\max}$ (Coyle *et al.*, 1988). Cette épreuve réalisée à 100% de $\dot{V}O_{2\max}$ est également prédictive de la capacité d'endurance chez des athlètes puisque Tlim est corrélé au temps de course lors du semi-marathon (Billat *et al.*, 1994). Ainsi, la capacité d'endurance peut varier fortement chez des individus présentant une $\dot{V}O_{2\max}$ identique.

I.2.1. Réponses cardio-circulatoires à l'exercice

I.2.1.1. Adaptation à un effort à charge constante

Le passage d'un état de repos à un état stable, au cours d'un exercice à charge constante, nécessite l'ajustement des paramètres cardiaques et cellulaires (figure 3). L'étude de l'ajustement cardio-circulatoire à l'exercice permet de caractériser la fonction cardiaque. Encore récemment, la mesure de \dot{Q} nécessitait des mesures invasives qui ne permettaient pas une modélisation fine de la réponse cardiaque à l'exercice, expliquant ainsi le faible nombre d'études. Cependant, le développement de nouvelles technologies, comme l'impédancemétrie ou le doppler, facilite l'analyse de la réponse cardiaque à l'exercice. Il semble que la Fc s'ajuste plus rapidement que le VES (Cerretelli, 2002). Le \dot{Q} s'adapterait plus rapidement que la $\dot{V}O_2$ pour des exercices de faible intensité (De Cort *et al.*, 1991; Perrey *et al.*, 2003) tandis qu'à haute intensité la cinétique de \dot{Q} est similaire (Yoshida *et al.*, 1993) voire plus lente que celle de la $\dot{V}O_2$ (Richard *et al.*, 2004).

Lors d'exercices de faibles intensités, la cinétique de \dot{Q} est plus rapide lorsque le sujet est en position allongée en comparaison avec la position assise ; toutefois, la position n'influence pas la réponse cardiaque au-delà de 60% (Leyk *et al.*, 1994). L'exercice intense réalisé à la puissance maximale aérobie (PMA), définie comme la plus petite puissance mécanique sollicitant $\dot{V}O_{2\max}$, est associé à une diminution du \dot{Q} en fin d'effort. Cette dernière résulte d'une baisse du VES tandis que la Fc reste stable ou continue d'augmenter (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003; Mortensen *et al.*, 2005). Ces nouvelles connaissances sont importantes car elles procurent des informations sur les mécanismes à l'origine des régulations circulatoires systémiques à l'exercice.

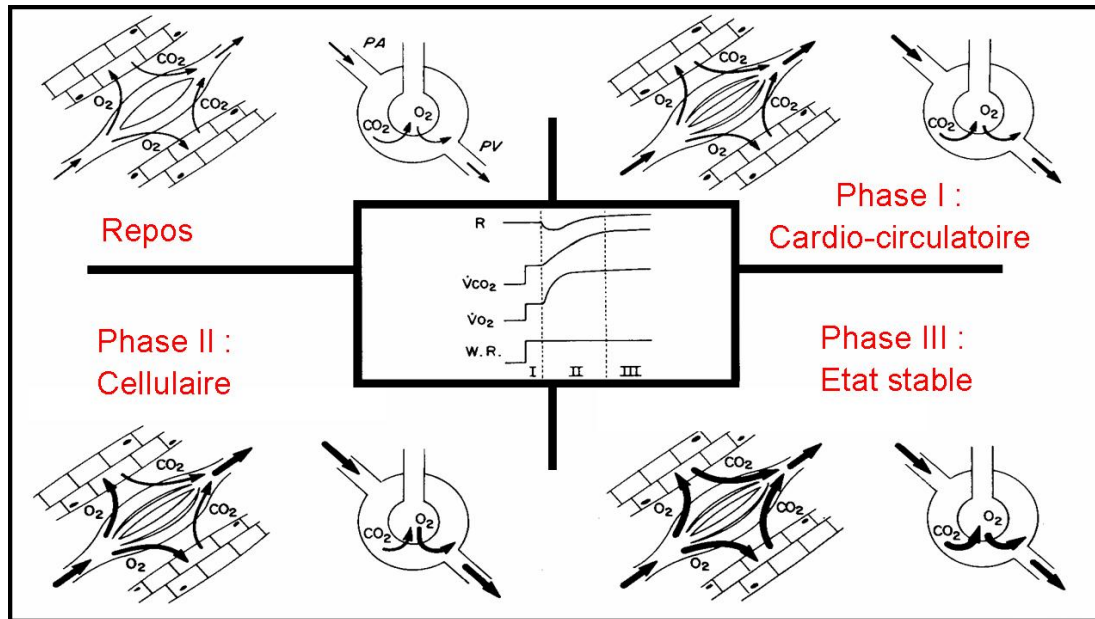


Figure 3 : Evolution des échanges gazeux au cours d'un exercice à charge constante. Les échanges gazeux sont représentés dans le diagramme central. Les échanges gazeux au niveau de la cellule musculaire sont représentés sur la partie gauche de chaque cadran, ils sont couplés à des ajustements pulmonaires représentés sur la partie droite du cadran. Les augmentations observées au cours de la phase I sont causées par une augmentation du débit cardiaque, on parle de phase cardio-dynamique. La phase II représente l'augmentation de l'extraction de l'O₂ au niveau cellulaire et le rejet progressif de CO₂ accompagnés par l'augmentation du débit cardiaque. La phase III représente l'état stable où les respirations cellulaire et pulmonaire sont identiques. \dot{V}_{O_2} : consommation d'O₂, \dot{V}_{CO_2} : rejet de CO₂, R : quotient respiratoire ($\dot{V}_{CO_2}/\dot{V}_{O_2}$) et W : puissance de l'exercice. Adapté de Wasserman *et al.* (1984).

I.2.1.2. Le débit sanguin musculaire

Le débit sanguin musculaire (\dot{Q}_{musc}) correspond à la quantité de sang dirigée vers les muscles. Cette quantité, inférieure à 20% du \dot{Q} au repos, peut atteindre plus de 80% lors d'un effort intense (Flamm *et al.*, 1990). La mesure du débit sanguin au niveau de l'artère fémorale est considérée comme le reflet de la quantité de sang parcourant le membre inférieur et donc du \dot{Q}_{musc} (Andersen & Saltin, 1985). \dot{Q}_{musc} est influencé principalement par le \dot{Q} (Blomqvist & Saltin, 1983) et par la dimension des artères qui irriguent les membres inférieurs (Andersen & Saltin, 1985). Au niveau périphérique, \dot{Q}_{musc} dépend de la densité du réseau de capillaires musculaires et du degré de vasodilatation (Honig *et al.*, 1980). Le développement de ce réseau capillaire est en partie lié à l'augmentation de la sinuosité de ses micro-vaisseaux et permet un apport d'O₂ et de substrats plus important aux muscles actifs en : 1) augmentant le temps de

transit dans les capillaires musculaires, 2) en augmentant la surface d'échanges entre les capillaires et les cellules musculaires et 3) en réduisant les distances de diffusion de l'O₂ entre les globules rouges et les mitochondries (Honig *et al.*, 1980).

L'ajustement du \dot{Q}_{musc} est fortement lié à la demande métabolique et est le résultat d'interactions entre une activité neuronale vasoconstrictrice et des substances vasodilatatrices locales (Clifford & Hellsten, 2004). Entre le repos et la $\dot{V}O_{2\text{max}}$, le débit sanguin de l'artère fémorale passe d'environ 0,2 à plus de 10 L·min⁻¹ lors d'une épreuve progressive sur ergocycle (Mortensen *et al.*, 2005). Son augmentation débute dès les premières secondes de l'exercice pour se stabiliser dans les 30 premières secondes lors d'un exercice modéré (Clifford & Hellsten, 2004). Si lors d'un exercice modéré (<SV₁) la cinétique du \dot{Q}_{musc} est proche de celle de la $\dot{V}O_{2\text{ musculaire}}$ (Grassi 1996), à l'exercice intense, le \dot{Q}_{musc} s'ajuste de manière plus rapide que $\dot{V}O_2$ (Endo *et al.*, 2005).

1.2.1.3. L'extraction d'O₂

La détermination de la différence artérioveineuse en O₂ ($D_{a-\bar{v}}O_2$) reflète la quantité d'O₂ extraite par les muscles et les organes. Elle correspond à la différence entre les contenus artériel (CaO_2) et veineux mêlés ($C\bar{v}O_2$) et s'exprime en mL·100mL sang⁻¹. Classiquement, les valeurs de la $D_{a-\bar{v}}O_2$ au repos oscillent entre 4 et 6 mL·100mL sang⁻¹ (Stringer *et al.*, 1994; Charloux *et al.*, 2000; Richard *et al.*, 2001). Au cours de l'exercice, la $D_{a-\bar{v}}O_2$ augmente rapidement dès le début de l'effort pour représenter près de 85% des possibilités d'extraction maximale, pour une intensité correspondant au SV₁ (Chuang *et al.*, 2002). Entre les intensités associées à SV₁ et SV₂ (pSV₁ et pSV₂), un relarguage supplémentaire et lent est observé pour atteindre une $D_{a-\bar{v}}O_2$ maximale à pSV₂ (Stringer *et al.*, 1994; Chuang *et al.*, 2002). Cette quantité supplémentaire d'O₂ extraite au niveau des tissus est liée à l'apparition de l'acidose métabolique associée à SV₁, qui induit par effet Bohr la dissociation de l'oxyhémoglobine (Stringer *et al.*, 1994; Grassi *et al.*, 1999). La capacité musculaire à extraire l'O₂ est relative aux capacités fonctionnelles des sujets ; ainsi, la $D_{a-\bar{v}}O_2$ maximale est supérieure chez des sujets entraînés (Stringer *et al.*, 1997; Mourtzakis *et al.*, 2004; Vella & Robergs, 2005a).

Le développement de la spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS) a permis la mesure non invasive du passage de l'état oxygéné de l'hémoglobine et de la myoglobine (Mb) à l'état désoxygéné. Des variations du signal NIRS sont observées entre 50 et 80% de la $\dot{V}O_{2\max}$. Ainsi, plusieurs études réalisées chez des sédentaires et des sportifs ont mis en évidence une corrélation entre la rupture de pente du signal NIRS, traduisant une meilleure oxygénation musculaire, et l'évolution du taux de lactates sanguins (Belardinelli *et al.*, 1995; Miura *et al.*, 1998; Grassi *et al.*, 1999). Cette rupture de pente refléterait une augmentation de la dissociation de l'HbO₂ consécutive à l'accumulation d'acide lactique et à l'augmentation de la température intramusculaire (Grassi *et al.*, 1999).

1.2.1.4. Les cinétiques de consommation d'O₂

En réponse à une augmentation de la demande énergétique, telle que le passage d'un état de repos à une intensité définie d'exercice, la $\dot{V}O_2$ s'accroît pour répondre aux besoins en ATP des muscles actifs. Il est reconnu que la vitesse à laquelle s'ajuste la $\dot{V}O_2$ est un paramètre important dans la performance en endurance (Whipp *et al.*, 2005). En effet, un ajustement rapide de la $\dot{V}O_2$ permet une moindre sollicitation du métabolisme anaérobie dont les métabolites perturbent le fonctionnement musculaire. L'évolution temporelle de la cinétique de $\dot{V}O_2$ a été décomposée en plusieurs phases (Whipp *et al.*, 1982; Barstow & Mole, 1991), qui présentent des profils différents selon l'intensité de l'exercice (Whipp, 1987). Quatre intensités cibles sont rapportées dans la littérature (Whipp *et al.*, 2005) :

- L'exercice modéré est associé à une lactatémie et un pH stables. L'intensité correspondante se situe sous la puissance métabolique associée à SV₁.
- L'exercice difficile voit la lactatémie et le pH évoluer au début de l'exercice puis se stabiliser par la suite. Pour obtenir un état stable de la lactatémie, la puissance devra se situer sous le seuil anaérobie lactique (LT₂, SV₂).
- L'exercice très difficile entraîne une augmentation progressive de la lactatémie et une diminution progressive du pH amenant le sujet à épuisement. L'intensité correspondante se situe entre SL₂ ou SV₂ et $\dot{V}O_{2\max}$.
- L'exercice sévère requiert une puissance métabolique supérieure à la $\dot{V}O_{2\max}$.

I.2.1.4.1. Evolution temporelle lors d'un exercice modéré

Whipp *et al.* (Whipp *et al.*, 1982) ont introduit le concept selon lequel la cinétique de $\dot{V}O_2$ comporte trois phases lors d'un exercice d'intensité modérée (figure 4). La première phase, d'une durée de 15 à 20 secondes, est appelée phase cardio-dynamique. Elle est principalement attribuée à l'augmentation du \dot{Q} et à une amélioration de la perfusion pulmonaire (Barstow & Mole, 1987). La seconde phase ou phase fondamentale, d'une durée de 15-20 secondes à 2-3 minutes, correspond à l'augmentation de $\dot{V}O_2$ des tissus impliqués dans l'exercice (Paterson & Whipp, 1991). L'augmentation de $\dot{V}O_2$ représentant étroitement la $\dot{V}O_2$ musculaire (Barstow & Mole, 1987; Barstow *et al.*, 1990), elle témoigne de l'augmentation de l'extraction l'O₂ au niveau des muscles. La forme de la cinétique de $\dot{V}O_2$ révèle ainsi des informations sur les ajustements des processus cardiorespiratoires (phase 1) et des capacités oxydatives musculaires (phase 2). La troisième phase est un état stable au cours duquel le métabolisme aérobie fournit l'énergie (ATP) nécessaire pour maintenir la puissance mécanique.

Initialement le temps de demi ($t_{1/2}$) ajustement de la $\dot{V}O_2$ était le paramètre mesuré permettant de décrire et de comparer les cinétiques de $\dot{V}O_2$ (Whipp & Wasserman, 1972). Le développement de modèles mathématiques permet à présent de décrire avec plus de précision les cinétiques de $\dot{V}O_2$. Ainsi, deux équations mono-exponentielles sont utilisées pour décrire l'évolution de la cinétique de $\dot{V}O_2$ lors d'un exercice modéré (figure X) :

$$\begin{aligned} \dot{V}O_2(t) = & \dot{V}O_{2b} \\ & + A_1[1 - e^{-(t-td1)/\tau1}] \quad \text{Phase 1 (phase cardio-dynamique)} \\ & + A_2[1 - e^{-(t-td2)/\tau2}] \quad \text{Phase 2 (phase fondamentale)} \end{aligned}$$

A représente l'amplitude du gain de $\dot{V}O_2$, τ est la constante de temps qui correspond au temps nécessaire pour atteindre 63% de A et td est le délai de mise en route de l'augmentation de la $\dot{V}O_2$.

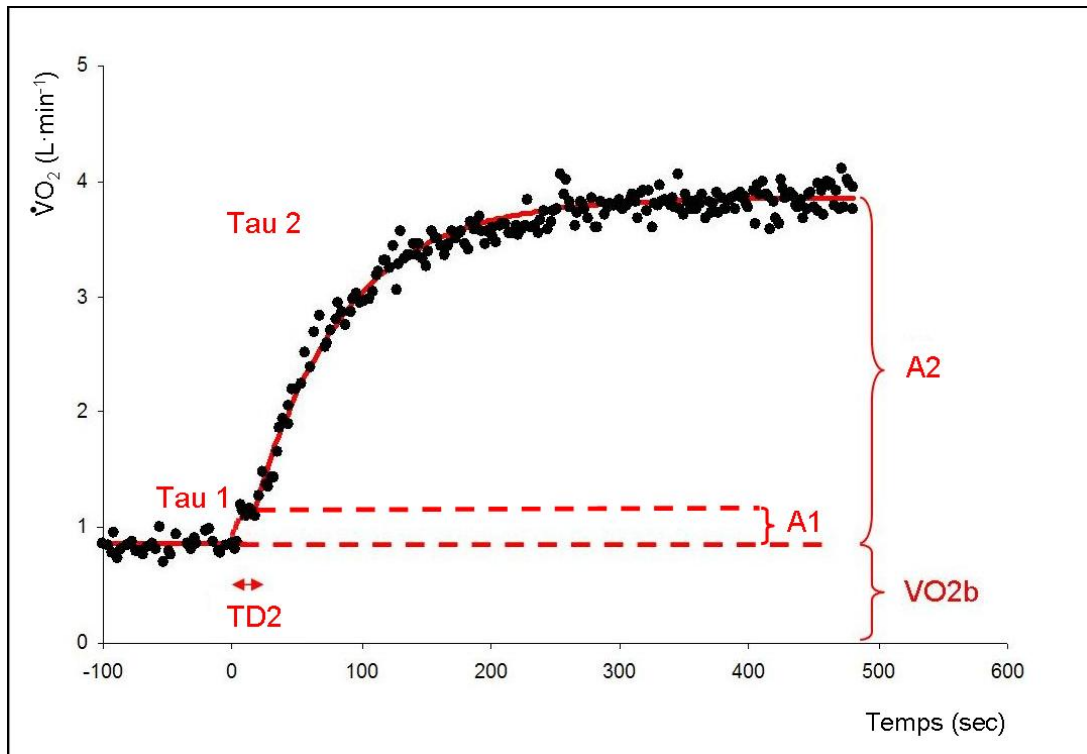


Figure 4 : Modélisation de la cinétique de $\dot{V}O_2$ au cours d'exercice modéré. Par souci de clarté TD1 n'est pas représenté sur le schéma. TD2 : délai d'apparition de la composante rapide, A1 : amplitude de la phase cardio-dynamique, A2 : amplitude de la phase fondamentale, Tau1 : constante de temps de la phase cardio-dynamique, Tau2 : constante de temps de la phase fondamentale, et VO2b : consommation basale d'O₂ du sujet.

I.2.1.4.2. Exercice difficile

Lorsque l'intensité de l'exercice dépasse SV_1 , une composante lente se surajoute à la composante rapide. Cette composante peut se stabiliser à des valeurs supérieures aux valeurs théoriques, estimées à partir de la relation $\dot{V}O_2$ /puissance, obtenues pour une intensité inférieure à SV_1 , si l'exercice est associé à une lactatémie stable. Lors d'un exercice au dessus de SV_2 , il n'y a pas d'état stable de la lactatémie et la $\dot{V}O_2$ dérive jusqu'à ce que le sujet atteigne l'épuisement (Poole *et al.*, 1994; Gaesser & Poole, 1996).

Il est alors plus approprié d'utiliser un modèle composé d'une somme de trois fonctions mathématiques (Casaburi *et al.*, 1989)(figure 5) :

$$\begin{aligned} \dot{V}O_2(t) = & \dot{V}O_{2b} \\ & + A_1[1 - e^{-(t-td1)/\tau1}] \quad \text{Phase 1 (phase cardio-dynamique)} \\ & + A_2[1 - e^{-(t-td2)/\tau2}] \quad \text{Phase 2 (phase fondamentale)} \\ & + A_3[1 - e^{-(t-td3)/\tau3}] \quad \text{Phase 3 (composante lente)} \end{aligned}$$

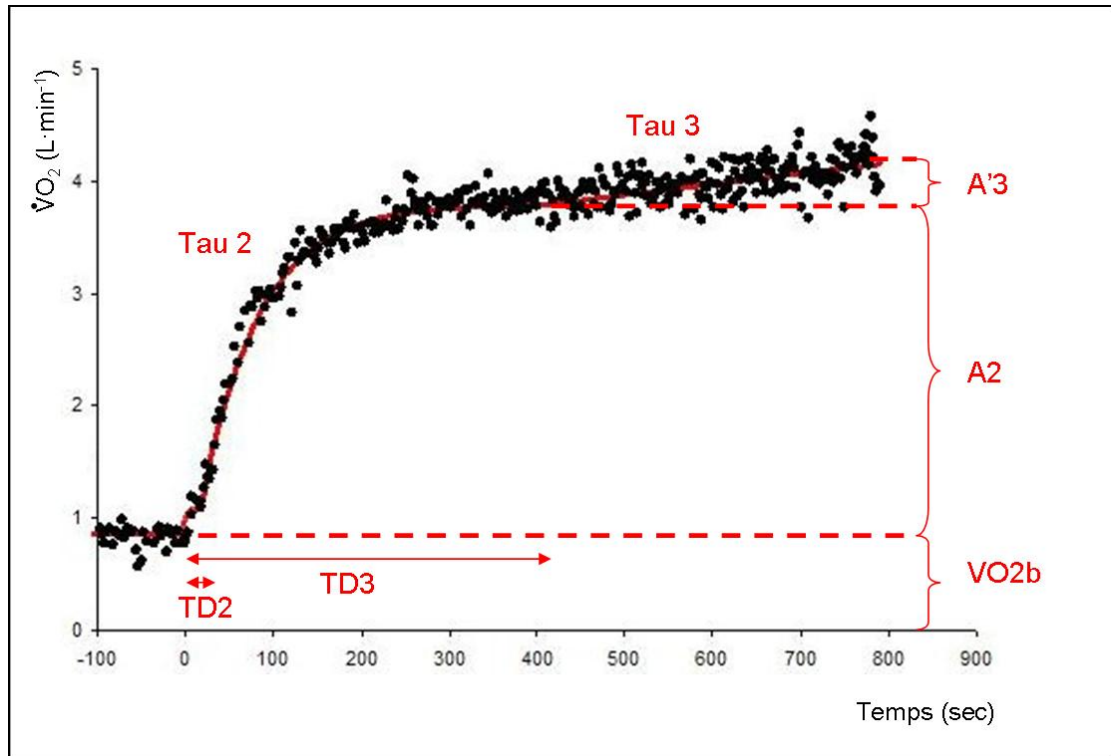


Figure 5 : Modélisation de la cinétique de $\dot{V}O_2$ au cours d'exercice modéré. Par souci de clarté TD1 n'est pas représenté sur le schéma. TD : délai d'apparition des composantes, A2 : amplitude de la composante rapide, Tau : constante de temps des composantes, A'3 correspond à l'amplitude de la composante lente à l'arrêt de l'exercice et VO2b : consommation basale d'O₂ du sujet.

L'apparition d'une composante lente induit une augmentation du coût énergétique puisque la production d'ATP d'origine aérobie augmente, tandis que la puissance mécanique reste identique. La diminution des stocks de PCr (phosphocréatine) concomitamment avec le développement de la composante lente (Rossiter *et al.*, 2002) suggère une augmentation du coût énergétique de la production d'énergie musculaire en phosphates (Bangsbo *et al.*, 2001). Actuellement, il n'existe pas de consensus scientifique concernant l'origine de cette composante lente. Toutefois, les muscles actifs sont à l'origine de cette dernière (Poole *et al.*, 1991). Plusieurs études l'identifient au recrutement de nouvelles fibres musculaires qui en remplaceraient d'autres fatiguées (Rossiter *et al.*, 1999; Garland *et al.*, 2004; Krstrup *et al.*, 2004a; Krstrup *et al.*, 2004b). Plus précisément, il s'agirait du recrutement de fibres musculaires de type II ayant comme caractéristique un coût énergétique de production en ATP plus important que les fibres de type I. Cependant, il est démontré que la composante lente tient un rôle important dans la tolérance à l'exercice et dans l'apparition de la fatigue (Poole *et al.*, 1988; Jones & Poole, 2005).

I.2.1.4.3. La notion de déficit en O₂

Le déficit en O₂ correspond à la différence entre la demande énergétique et la production d'énergie aérobie en début d'exercice. L'allure de la cinétique de $\dot{V}O_2$ prend donc une importance primordiale dans la détermination de ce déficit. Aussi, une cinétique de $\dot{V}O_2$ rapide permet de le diminuer et entraîne une plus faible perturbation de l'homéostasie cellulaire, ayant pour conséquence un accroissement de la durée de l'exercice et une diminution de la fatigue musculaire (Grassi, 2006). Plusieurs facteurs déterminent la cinétique de $\dot{V}O_2$ tels que le niveau d'entraînement ou l'intensité de l'exercice. L'entraînement tend à accélérer les cinétiques de $\dot{V}O_2$ permettant la réduction du déficit en O₂ et l'amélioration des performances en endurance (Casaburi *et al.*, 1987; Billat *et al.*, 2002; Koppo *et al.*, 2004). A des intensités relatives identiques, des cyclistes s'ajustent de manière plus rapide que des personnes sédentaires (Koppo *et al.*, 2004). De plus, l'intensité de l'exercice influe sur la vitesse d'ajustement de la $\dot{V}O_2$ et une augmentation de l'intensité de l'exercice entraîne un allongement de la durée d'ajustement (Koppo *et al.*, 2004).

I.2.1.4.4. Mécanismes régulateurs de l'ajustement de $\dot{V}O_2$

Au vu de l'importance de l'ajustement dans la cinétique de $\dot{V}O_2$ lors de la performance, plusieurs hypothèses ont été testées pour déterminer les facteurs déterminants des cinétiques. L'augmentation du débit musculaire pharmacologiquement (Grassi *et al.*, 2002) et l'augmentation de la capacité de transport en O₂ par hyperoxie (Grassi *et al.*, 1998) se sont toutes deux révélées être des moyens inefficaces pour accélérer les cinétiques. Elles suggèrent ainsi que l'apport et la diffusion d'O₂ ne sont pas des facteurs limitants des cinétiques de $\dot{V}O_2$. Le rôle de la pyruvate déshydrogénase (PDH) n'est pas confirmé (Timmons *et al.*, 1998; Bangsbo *et al.*, 2002; Grassi *et al.*, 2002) et l'inhibition de la respiration mitochondriale par l'oxyde nitrique (NO) nécessite de plus amples investigations. L'inhibition de la synthèse de NO par l'injection de L-NAME, chez l'homme, a permis d'accélérer la cinétique de $\dot{V}O_2$ pour des exercices modérés, intenses et supramaximaux (Jones *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2004; Wilkerson *et al.*, 2004). Cependant, Grassi *et al.* (Grassi *et al.*, 2005) ont démontré sur un modèle animal, en maintenant le débit constant, que l'inhibition de NO n'influçait pas les cinétiques de $\dot{V}O_2$. Enfin, l'inhibition de la créatine

kinase chez le chien, par injection d'iodoacetamide, engendre une accélération des cinétiques de $\dot{V}O_2$ (Grassi *et al.*, 2005). Ces résultats suggèrent que, par leur haute capacité de tampons énergétiques, l'hydrolyse de la PCr et la glycolyse anaérobie retardent l'augmentation de la concentration d'ADP intracellulaire et diminuent l'activation de la phosphorylation oxydative (Cerretelli *et al.*, 1979; Kindig *et al.*, 2005).

Contrairement à la mesure de la $\dot{V}O_{2\max}$ qui renseigne sur la capacité fonctionnelle du système cardiovasculaire à délivrer l' O_2 aux muscles actifs, l'analyse des cinétiques de $\dot{V}O_2$ permet une évaluation fonctionnelle des capacités oxydatives musculaires (Grassi, 2006). Aussi, une meilleure organisation spatiale des réseaux de mitochondries permettrait un meilleur contrôle de la respiration cellulaire et un ajustement plus rapide des cinétiques de $\dot{V}O_2$ à l'exercice.

En résumé, la mesure de la consommation d' O_2 , à travers un exercice progressif maximal ou un exercice à charge constante, permet de caractériser la performance aérobie d'un sujet. Cette mesure permet également la détermination de seuils associés à des intensités d'exercice qui caractérisent des changements dans la régulation du métabolisme énergétique et visent à maintenir l'homéostasie. Ces paramètres, adjoints à la vitesse d'ajustement de la consommation d' O_2 au cours d'un exercice, qui résulte de l'interaction entre l'évolution de débit cardiaque et de l'extraction périphérique d' O_2 , déterminent la capacité d'endurance des sujets. Ainsi, le développement du débit cardiaque maximal et/ou des capacités oxydatives musculaires sont nécessaires pour améliorer le niveau de performance aérobie d'un sujet.

I.3. FACTEURS LIMITANTS DE LA $\dot{V}O_{2\max}$

Le passage de l' O_2 de l'atmosphère jusqu'à la mitochondrie suit quatre étapes : deux étapes de diffusion au niveau des poumons et de la microcirculation périphérique, reliées entre elles par le transport de l' O_2 par convection dans la circulation sanguine, la dernière étape correspond à la consommation d' O_2 au niveau des mitochondries (Weibel *et al.*, 1991). Toutes ces étapes sont susceptibles d'altérer la $\dot{V}O_{2\max}$.

I.3.1. Les facteurs centraux

I.3.1.1. Le système pulmonaire

Pour la plupart des individus réalisant un exercice exhaustif au niveau de la mer, les capacités pulmonaires sont suffisantes et même excessives pour maintenir la saturation du sang artériel en O₂ supérieure à 95% (Weibel *et al.*, 1991). Seuls des athlètes élités en endurance ont montré une désaturation en O₂ durant un exercice maximal (Dempsey *et al.*, 1984). Le \dot{Q} extrêmement important chez ces athlètes diminue fortement le temps de transit des globules rouges dans les capillaires pulmonaires. Par conséquent, la durée pendant laquelle le sang se trouve dans les capillaires pulmonaires est insuffisante pour le saturer entièrement en O₂. La capacité pulmonaire n'était pas un facteur limitant chez le sédentaire mais devient le premier facteur limitant chez le sportif très entraîné en endurance (Lindstedt *et al.*, 1994).

I.3.1.2. Le débit cardiaque

Dès le début du XX^{ème} siècle, à travers les travaux de Hill (Hill & Lupton, 1923), le \dot{Q} est décrit comme un facteur limitant de la $\dot{V}O_{2\max}$. La principale variable expliquant la différence de $\dot{V}O_{2\max}$ entre des sujets sédentaires et des athlètes est le \dot{Q} maximal, en démontrant que 5,9 à 7,5 L·min⁻¹ de \dot{Q} étaient nécessaires par litre de $\dot{V}O_{2\max}$ (Saltin & Stenberg, 1964; Grimby *et al.*, 1966; Ekblom & Hermansen, 1968). La variabilité observée dans cette relation dépend principalement de deux facteurs : la concentration en hémoglobine et le VES maximal (Saltin & Stenberg, 1964; Ekblom & Hermansen, 1968; Bassett & Howley, 2000). La quantité d'O₂ contenue dans le sang artériel (environ 200 ml d'O₂·L⁻¹) diminue en traversant les muscles actifs pour atteindre environ 20 mL d'O₂·L⁻¹ dans le sang veineux. Ainsi, au maximum de l'exercice, quasiment tout l'O₂ disponible est extrait du sang qui perfuse les muscles actifs. Le mécanisme permettant d'augmenter la $\dot{V}O_{2\max}$, suite à un entraînement, découle d'une augmentation du \dot{Q} et donc de l'apport en O₂ au muscle. Il a été estimé que 70-85% de la limitation de la $\dot{V}O_{2\max}$ est liée au \dot{Q} maximum (Bassett & Howley, 2000). De plus, l'arrêt de l'exercice est précédé par une diminution du \dot{Q} et du \dot{Q}_{musc} (Gonzalez-Alonso & Calbet, 2003). L'addition du débit maximal observé lors d'un exercice sollicitant uniquement les jambes et d'un exercice sollicitant uniquement les bras dépasse la

capacité maximale de pompage du cœur (Calbet *et al.*, 2004). Aussi, toutes ces données démontrent que la $\dot{V}O_{2\max}$ est principalement limitée par l'apport en O_2 .

1.3.1.3. Le transport d' O_2

La majorité du transport de l' O_2 dans le sang est assurée par les protéines d'hémoglobine (Hb) présentes dans les globules rouges. Ainsi, l' O_2 lié à l'Hb assure près de 99% du transport sanguin de l' O_2 , le reste ayant lieu sous forme libre ou dissoute dans le plasma. Chaque Hb peut fixer quatre molécules d' O_2 et la capacité de transport sanguin de l' O_2 est étroitement dépendante du nombre de globules rouges et de leur saturation. Le contenu sanguin en O_2 est défini par la formule suivante :

$$\text{Contenu en } O_2 \text{ (mL}\cdot\text{L}^{-1}) = (1,39 \times [\text{Hb}] \times \text{SaO}_2) + (0,003 \times \text{PO}_2)$$

Où 1,39 représente le pouvoir oxyphorique massique de l'hb ou la quantité d' O_2 pouvant être fixée par l'Hb ($\text{mLO}_2\cdot\text{g Hb}^{-1}$), SaO_2 (%) correspond à la saturation des globules rouges en O_2 , $[\text{Hb}]$ est la concentration sanguine en Hb ($\text{g}\cdot 100\text{mL sang}^{-1}$) et PO_2 est la pression sanguine en O_2 (mmHg).

Chez l'homme sain, au repos, $[\text{Hb}]$ vaut environ $15 \text{ g}\cdot 100\text{mL sang}^{-1}$, la saturation est proche de 98% dans le sang artériel et le contenu artériel en O_2 (CaO_2) atteint $20,4 \text{ mL}\cdot 100\text{mL sang}^{-1}$. A l'exercice, une hémococoncentration se développe dès 50% de $\dot{V}O_{2\max}$ (Mortensen *et al.*, 2005) et le CaO_2 augmente pour atteindre des valeurs proches de $21 \text{ mL}\cdot 100\text{mL sang}^{-1}$ à $\dot{V}O_{2\max}$. Ainsi, la réinjection de 900 à 1350 mL de sang permet d'augmenter la $\dot{V}O_{2\max}$ de 4 à 9% (Gledhill, 1982). De nouvelles méthodes ont été développées à des fins thérapeutiques, pour augmenter artificiellement cette capacité de transport. Ces techniques sont toutefois régulièrement détournées par le milieu sportif.

1.3.2. Les facteurs musculaires

1.3.2.1. La diffusion périphérique

Il existe une grande différence entre la pression partielle en O_2 (PO_2) des compartiments sanguin et cellulaire ($> 80 \text{ mmHg}$). Cette grande différence est nécessaire afin de maintenir une force de diffusion importante et donc d'accroître la conductance de l' O_2 (Honig *et al.*, 1992). Ainsi, la diffusion de l' O_2 dépend de l'interaction entre le transport de l' O_2 par la myoglobine et sa consommation par la mitochondrie.

1.3.2.2. Les capacités oxydatives musculaires et les enzymes

La comparaison de sédentaires, d'actifs et de sportifs a mis en évidence une relation entre les capacités oxydatives musculaires, où la mitochondrie est étudiée *in situ*, et la $\dot{V}O_{2_{\max}}$ (Zoll *et al.*, 2002) ; ces résultats suggèrent que les mitochondries jouent un rôle important dans la détermination de la $\dot{V}O_{2_{\max}}$. La mitochondrie ne semble cependant pas être le principal facteur limitant, puisque toute modification augmentant l'apport en O_2 à la mitochondrie améliore la $\dot{V}O_{2_{\max}}$, sans pour autant augmenter le nombre de mitochondries (Wagner, 2006). La multiplication par 2,2 des enzymes mitochondriales après un entraînement n'entraîne qu'une hausse de 20 à 40% de la $\dot{V}O_{2_{\max}}$ (Saltin *et al.*, 1977). Ainsi, le principal intérêt de l'augmentation des enzymes mitochondriales est d'améliorer la performance en endurance (Holloszy & Coyle, 1984). L'augmentation du nombre de mitochondries permet à chacune d'entre elle de fonctionner de manière optimale avec un rendement maximal.

1.3.2.3. La densité capillaire

C'est à travers les capillaires que s'effectuent les échanges entre les compartiments sanguin et musculaire. Aussi, leur rôle est primordial pour l'apport de l' O_2 aux muscles. Dans le muscle squelettique, les capillaires se situent le long de l'axe longitudinal des fibres musculaires, l'importante sinuosité et le grand nombre d'embranchements contribuent à leur longueur totale. Le degré de sinuosité varie en fonction de la longueur des sarcomères et s'avère un déterminant important de la surface totale du capillaire. Plus précisément, il a été démontré que la taille de l'interface entre le capillaire et la fibre est de première importance dans la détermination du flux d' O_2 du capillaire à la mitochondrie (Mathieu-Costello *et al.*, 1992). Le nombre de capillaires par fibre musculaire est couplé au profil métabolique et à la taille de la fibre. Plus la fibre a un métabolisme oxydatif, plus sa densité capillaire est importante (Degens *et al.*, 1992).

I.3.3. Facteurs limitants de l'exercice maximal

I.3.3.1. La théorie du symmorphisme

La théorie du symmorphisme détermine que la capacité de transfert de l'O₂, de l'atmosphère à la mitochondrie, est liée aux besoins fonctionnels induisant une adaptation structurelle par la régulation de la morphogenèse (Weibel *et al.*, 1991). La comparaison d'espèces de même poids a permis de mettre en avant l'adaptation nécessaire pour accroître la $\dot{V}O_{2\max}$ s'expliquant principalement par une augmentation du débit et de la population mitochondriale (Taylor *et al.*, 1987; Jones *et al.*, 1989). Pour des espèces de poids différents, c'est la quantité des mitochondries qui conduit à une plus grande $\dot{V}O_{2\max}$ en élevant la capacité d'utilisation de l'O₂ (Taylor & Weibel, 1991). De ce fait, le symmorphisme prédit que la structure et les paramètres structuraux, qui déterminent la consommation d'O₂ ainsi que le flux à chaque étape, sont juste suffisants pour fournir le flux en O₂ à la vitesse maximale (Taylor *et al.*, 1987).

I.3.3.2. Limitation centrale ou périphérique

La détermination du principal facteur limitant la $\dot{V}O_{2\max}$ fait toujours débat (Wagner, 2006). La réduction d'une des étapes dans le transport de l'O₂ induit une diminution de la $\dot{V}O_{2\max}$. Ainsi, une diminution de la PO₂ avec l'altitude (Faulkner *et al.*, 1968), la réduction du taux d'hb (Gledhill, 1985) ou la diminution du \dot{Q} (Tesch, 1985) altèrent la $\dot{V}O_{2\max}$. Ces facteurs plaident pour une limitation de l'apport en O₂. En 1985, Saltin *et al.* démontrèrent que pour un sujet réalisant un exercice maximum avec une masse musculaire faible (un seul muscle du quadriceps, une jambe), la $\dot{V}O_2$ de ce muscle est 2-3 fois plus élevée que lorsque l'on réalise un exercice maximum incluant la masse musculaire totale (Andersen & Saltin, 1985). Ceci prouve que lorsqu'une plus grande part du \dot{Q} perfuse le muscle actif, ce muscle est capable d'atteindre des vitesses de consommation de l'O₂ bien supérieures. Ainsi, la $\dot{V}O_{2\max}$ est limitée par l'apport en O₂ au muscle et non par la capacité du muscle à consommer de l'O₂. Taylor *et al.* conclurent dans leurs travaux que les animaux sont capables d'exploiter entre 60 et 80% de leur capacité oxydative *in vitro* lors d'un exercice à $\dot{V}O_{2\max}$ (Taylor *et al.*, 1987). Cependant, les mitochondries ne peuvent pas travailler efficacement à

100% de leurs possibilités ; il est donc important qu'elles soient en nombre suffisant et qu'elles puissent fonctionner en dessous de leur maximum, c'est à dire aux alentours de 50-60%.

A travers la construction de modèles mathématiques intégrant toutes les étapes du transport de l'O₂, Wagner *et al.* (Wagner, 1996) ont montré que l'augmentation du \dot{Q} , du taux d'hb et de la diffusion au niveau pulmonaire et musculaire affectent de manière positive la $\dot{V}O_{2max}$. Ainsi, une augmentation de 20% de la conductance musculaire entraîne une augmentation de 5,0% de $\dot{V}O_{2max}$, une augmentation de 20% de la concentration en hb entraîne une augmentation de 3,9% de $\dot{V}O_{2max}$ tandis qu'une augmentation de 20% du \dot{Q} entraîne une augmentation de 2,6% de $\dot{V}O_{2max}$. Si toutes ces variables affectent la $\dot{V}O_{2max}$, le \dot{Q} n'est pas le facteur ayant la plus grande influence sur celle-ci. De plus, une augmentation du \dot{Q} réduit à la fois le temps de transit dans les poumons et dans les capillaires musculaires et affecte donc la diffusion qui s'oppose au gain de conduction. C'est la seule possibilité pour les athlètes d'atteindre des valeurs de $\dot{V}O_{2max}$ élevées et d'avoir un \dot{Q} très élevé et une capacité de transport de l'O₂ des capillaires à la mitochondrie elle aussi augmentée.

I.4. Influence des maladies chroniques sur la performance aérobie

Les maladies chroniques sont des situations pathologiques dans lesquelles la dysfonction d'un organe provoque toute une série d'altérations au niveau des autres organes, conduisant notamment à une fatigue musculaire précoce et une dyspnée. Aussi, ces patients présentent une incapacité à l'exercice. Au sein de notre service, deux types de maladies chroniques sont étudiées : l'insuffisance cardiaque (IC) et la broncho-pneumopathie obstructive (BPCO). Si l'origine de ces maladies diffère, il y a une similitude sur les conséquences systémiques et leurs effets sur la capacité d'exercice (Gosker *et al.*, 2000). Dans cette partie nous allons donc définir ces maladies chroniques et décrire leur influence sur la capacité d'exercice.

I.4.1. L'insuffisance cardiaque

I.4.1.1. Définition

Selon l'organisation mondiale de la santé, l'IC se définit comme une anomalie de la pompe cardiaque qui place le cœur dans l'incapacité de répondre de façon satisfaisante aux besoins en oxygène, métabolites et nutriments des tissus. L'IC est une des principales causes de mortalité et d'invalidité dans les pays occidentaux. Les cardiomyopathies sont classées en quatre catégories : les cardiomyopathies dilatées, hypertrophiques, restrictives et la dysplasie du ventricule droit arrhythmogène.

I.4.1.2. Altération de la capacité d'exercice

L'IC est caractérisée par une diminution des performances aérobies et l'apparition d'une fatigue plus précoce. L'origine de ces altérations est à la fois centrale et périphérique. Au niveau du muscle cardiaque, on observe une diminution des capacités oxydatives myocardiques (Quigley *et al.*, 2000), une altération du système des créatines kinases (Dzeja *et al.*, 2000) mais aussi une diminution du rendement mécanique augmentant le coût énergétique de la contraction (Ashrafian *et al.*, 2003). La diminution des capacités oxydatives semble liée à une altération de la biogenèse mitochondriale du tissu cardiaque mise en évidence par une diminution des voies de transcription (Ventura-Clapier *et al.*, 2004). Des changements dans les muscles périphériques, participant à la diminution de la capacité d'exercice, sont également décrits. Ces changements incluent une atrophie musculaire, une diminution de la vascularisation, une évolution de la typologie musculaire vers un phénotype glycolytique et une diminution de la résistance à la fatigue (Drexler & Coats, 1996). Ainsi, les altérations métaboliques associées à l'IC affectent à la fois le muscle cardiaque et les muscles squelettiques suggérant une atteinte métabolique généralisée dans cette maladie chronique (Ventura-Clapier *et al.*, 2002).

I.4.2. La broncho-pneumopathie chronique obstructive

I.4.1.1. Définition

La BCPO est un état pathologique caractérisé par la présence d'une limitation des débits aériens non totalement réversible, associée à une destruction du parenchyme pulmonaire. La limitation des débits aériens et la destruction parenchymateuse sont

généralement progressives et associées à une réponse inflammatoire excessive des poumons à des particules ou gaz nocifs, au premier rang desquels on retrouve ceux produits par la fumée de cigarette (Celli & MacNee, 2004). Actuellement, on regroupe dans les BPCO, les bronchites chroniques à forme obstructive, les emphysèmes et, pour certains auteurs, les formes chroniques d'asthme qui sont la complication d'une symptomatologie de bronchite chronique. Cette maladie est en constante progression ; elle est aujourd'hui la cinquième cause de mortalité dans le monde.

1.4.1.2. Altération de la capacité d'exercice

Tout comme l'IC, la BCPO entraîne des modifications de la morphologie, de la typologie et du métabolisme musculaires participant à la diminution de la capacité d'exercice. La BCPO engendre une diminution de la masse musculaire (Sato *et al.*, 1997) et une diminution des enzymes oxydatives au profit des enzymes glycolytiques (Gosker *et al.*, 2000). La typologie musculaire des muscles moteurs évolue vers un phénotype glycolytique tandis qu'il évolue vers un phénotype oxydatif pour les muscles respiratoires (Levine *et al.*, 1997). Ces modifications entraînent une diminution de la force musculaire (Bernard *et al.*, 1998) et une apparition précoce du lactate lors de l'exercice (Maltais *et al.*, 1996) et induisent une diminution de la capacité d'exercice. Ainsi, les altérations musculaires associées à la BCPO affectent à la fois les muscles respiratoires et les muscles squelettiques suggérant une atteinte généralisée dans cette maladie chronique.

En résumé, toutes les étapes du transfert de l'O₂ de l'air ambiant à la mitochondrie participent à la détermination de la consommation maximale d'O₂ et par conséquent peuvent en être le facteur limitant. Les malades chroniques comme le BCPO et l'insuffisant cardiaque présentent une atteinte fonctionnelle qui entraîne des modifications du phénotype et du métabolisme musculaires participant à la diminution des capacités fonctionnelles.

CHAPITRE II : LE MUSCLE SQUELETTIQUE ET PRODUCTION D'ENERGIE

Tout mouvement requiert de l'énergie fournie par la dégradation de substrats, soit de manière anaérobie, soit en présence d'O₂. Selon les caractéristiques de l'exercice, on observe une utilisation préférentielle du métabolisme anaérobie ou aérobie. Ainsi, pour des exercices d'endurance, c'est le métabolisme aérobie qui est privilégié. Les mitochondries sont les organes centraux de la fourniture d'énergie aérobie. Pour ce faire, divers substrats tels que le glycogène ou les acides gras sont dégradés en suivant le cycle de Krebs ou bien la β -oxydation. Ce chapitre va nous permettre de déterminer le rôle de la mitochondrie et de détailler les différentes voies métaboliques permettant la fourniture d'énergie.

II.1. La mitochondrie

La mitochondrie est une bactérie originellement indépendante, riche en composants biochimiques dont l'objectif majeur est la production d'énergie. Elle comporte plusieurs exemplaires de son propre ADN (mtADN) distinct de l'ADN nucléaire (Wiesner *et al.*, 1992). Cependant, le mtADN encode seulement pour une fraction de 13 protéines fondamentales pour la fonction mitochondriale et plus particulièrement pour les complexes de la chaîne respiratoire (Zeviani & Di Donato, 2004; Taylor & Turnbull, 2005). Les protéines restantes (environ 850) sont encodées dans le noyau et transportées dans la mitochondrie. En plus d'assurer l'approvisionnement cellulaire en énergie, les mitochondries ont d'autres rôles vitaux pour le bon fonctionnement de la cellule. Elles participent à l'homéostasie calcique, à la régulation du pH intracellulaire, à la synthèse d'hormones stéroïdes et des hèmes, ainsi qu'à la régulation de la thermogénèse. De plus, elles constituent un des principaux sites de production des radicaux libres.

II.1.1. Structure

La mitochondrie est un organite hautement spécialisé dans la transformation d'énergie, elle est de forme longitudinale et contient deux membranes.

II.1.1.1. La membrane externe

C'est une membrane rigide dans laquelle un nombre important de protéines sont enchâssées. Ces protéines permettent les échanges entre le cytosol et l'espace inter-membranaire de la mitochondrie en formant des pores qui autorisent, d'une part la translocation de protéines (TOM), et d'autre part permettent les échanges de métabolites de petit poids moléculaire via des porines. La porine, également appelée voltage dépendant anion channel (VDAC) est la principale voie par laquelle transitent les métabolites régulant la respiration mitochondriale. Les trois isoformes dénombrés chez les mammifères (VDAC1, VDAC2, VDAC3) présentent des différences de perméabilité et joueraient un rôle différent dans la régulation de la fonction mitochondriale (Anflous *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1999).

II.1.1.2. L'espace inter-membranaire

L'espace inter-membranaire se situe entre les deux membranes et contient des protéines qui jouent un rôle majeur dans l'énergétique mitochondriale et la mort cellulaire (Duchen, 2004). La créatine kinase mitochondriale (mi-CK) occupe un rôle prépondérant dans le transfert d'énergie. Fixée sur la membrane interne, elle a un accès privilégié à l'ADP, généré dans la matrice mitochondriale et transporté dans l'espace inter-membranaire par l'adénine nucléotide translocase (ANT). La mi-CK, également couplée à la membrane externe, pourrait être impliquée dans la régulation de l'importation de créatine dans l'espace inter-membranaire et dans l'exportation de la PCr dans le cytosol (Wallimann *et al.*, 1992).

II.1.1.3. La membrane interne

La membrane interne présente une perméabilité réduite et sélective, elle forme la barrière la plus distincte entre le cytosol et la matrice mitochondriale. Cette perméabilité sélective permet de maintenir un gradient de concentration pour les protéines, les ions et les métabolites. Des transporteurs permettent les échanges entre les compartiments et participent au bon fonctionnement de la mitochondrie :

- Les complexes de la chaîne respiratoire sont représentés par 5 complexes protéiques, dont l'ATP synthase, ancrés dans la membrane interne. Ils assurent le maintien du gradient de proton et la formation d'ATP.

- L'ANT est constituée de deux sous-unités de 32 kDa et d'un site unique de liaison à l'ATP ou l'ADP. Selon sa conformation, elle fait face, alternativement, à la matrice ou à l'espace inter-membranaire. L'ATP mitochondriale est échangée par l'ADP cytosolique dans un rapport 1:1.
- Les protéines découplantes (UCPs) sont enchâssées dans la membrane interne et permettent le passage de protons de la matrice à l'espace inter-membranaire. Ce phénomène de fuite induit un couplage incomplet entre les phosphorylations et les oxydations, appelé respiration mitochondriale découplée. Une partie de l'énergie est ainsi perdue sous forme de chaleur. La fuite des protons permettrait de diminuer la production des radicaux libres par une augmentation de l'oxydation de l'ubiquinone, et donc minimiserait le stress oxydant ainsi que les dégâts au niveau de l'ADN (Brand, 2000). Les UCPs joueraient un rôle de protection contre le stress oxydant (Echtay *et al.*, 2002).

II.1.2. Distribution dans la cellule musculaire

L'utilisation de sondes fluorescentes a permis de décrire la mitochondrie comme un réticulum ou un réseau dynamique et continu qui entre continuellement en fusion ou en fission (Duchen, 2004). Ces analyses ont permis de regrouper les mitochondries en deux groupes : les mitochondries inter-fibrillaires et subsarcolemmales. Ces deux types d'organelles présentent des propriétés biochimiques et des niveaux d'activité enzymatique différents et semblent répondre différemment au stress métabolique (Lesnefsky & Hoppel, 2003). Les mitochondries sont ancrées dans la cellule grâce à des protéines du cytosquelette et peuvent se déplacer grâce à des protéines dites motrices telles que les myosines, la dynéine ou la kinésine.

II.2. Fonctionnement de la mitochondrie

II.2.1. La chaîne de transport des électrons

Les éléments clés constituant la mitochondrie sont d'une part, les réactions enzymatiques d'oxydation des substrats énergétiques et d'autre part, la chaîne de transport des électrons ou chaîne respiratoire. L'oxydation des substrats par le cycle de Krebs ou la β -oxydation entraîne la réduction du NAD^+ en NADH et du FAD^{2+} en FADH_2 . Ces intermédiaires sont appelés équivalents réducteurs et fournissent des électrons à la chaîne

respiratoire. Cette dernière est composée de cinq complexes : le complexe I ou NADH déhydrogénase, le complexe II ou succinate déhydrogénase, le complexe III ou ubiquinol cytochrome c réductase, le complexe IV ou cytochrome c oxydase et le complexe V ou ATP synthase. Tous sont composés de plusieurs sous-unités protéiques. Seul le complexe II est entièrement encodé dans le noyau tandis que les autres complexes résultent de l'association de protéines encodées par les ADN nucléaire et mitochondrial (Zeviani & Di Donato, 2004; Taylor & Turnbull, 2005).

II.2.2. La phosphorylation oxydative

Les électrons sont transportés par le NADH et le FADH_2 , respectivement aux complexes I et II qui transfèrent l'électron à l'ubisemiquinone, cette dernière l'acheminant au complexe III. L'arrivée de l'électron au complexe IV constitue la fin de la chaîne d'oxydo-réduction et entraîne la réduction de l'oxygène moléculaire en eau. Les réactions associées au passage de l'électron au niveau des complexes I, III et IV entraînent le passage d'un proton vers l'espace inter-membranaire à travers les complexes. Ce passage établit un gradient électrochimique de protons qui crée une force proton motrice utilisée par le complexe V pour phosphoryler des molécules d'ADP et ATP, assurant le couplage de la chaîne des oxydo-réductions avec la production d'ATP (figure 6)(Stock *et al.*, 1999).

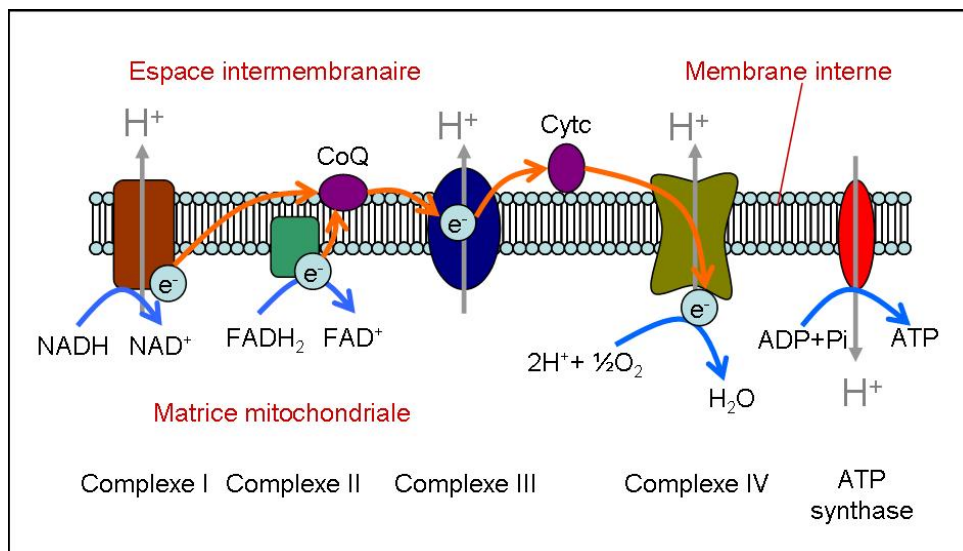


Figure 6 : Chaîne de transport des électrons. Les électrons sont apportés au niveau de la chaîne respiratoire par les équivalents réducteurs : NADH (complexe I) et FADH_2 (complexe II). L'électron est ensuite amené au niveau du complexe IV où il est utilisé pour former de l'eau. Le passage de l'électron au niveau des complexes I, III et IV entraîne le passage de protons (H^+) dans l'espace intermembranaire et crée un gradient protonique qui va permettre la formation ATP lors du passage des protons au niveau de l'ATP synthase.

La cytochrome c oxydase (COX), accepteur final d'électrons de la chaîne respiratoire (Weibel *et al.*, 1991), est une enzyme cruciale pour la respiration mitochondriale. Elle fait partie du complexe IV de la chaîne respiratoire, et permet de catalyser la réaction suivante : $2\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$. Cette réaction représente une étape participant à la limitation de la vitesse de la phosphorylation oxydative. Ainsi, il est capital que la PO_2 , au niveau du microenvironnement cellulaire, satisfasse les conditions cinétiques et thermodynamiques pour le bon fonctionnement de la phosphorylation oxydative. Lors d'un exercice à $\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{max}}$, nous savons que la PO_2 au niveau du cytochrome aa3 est très faible (<1 kPa) et pourrait expliquer la réduction de la respiration mitochondriale maximale (Severinghaus, 1994; Richardson *et al.*, 1999).

II.2.3. La production de radicaux libres oxygénés

La mitochondrie, au cœur de l'énergétique cellulaire, est en même temps à travers les complexes de la chaîne respiratoire, un des sites majeurs de production des radicaux libres oxygénés (RLO dont la terminologie anglaise est ROS : reactive oxygen species)(Boveris *et al.*, 1972). La production de RLO correspond à la réduction de la molécule d' O_2 en anion superoxyde ($\text{O}_2^- \bullet$). Par définition, des molécules telles que l'hydrogène peroxyde (H_2O_2) ou d'hydroxyle ($\text{OH} \bullet$) sont des RLO. Leur production, de manière enzymatique ou non, est possible au niveau de plusieurs sites de la mitochondrie (au niveau des complexes I et III, de la matrice et de la membrane externe) et se développe majoritairement au repos (Turrens, 2003).

La majeure partie de l' O_2 est complètement réduite au niveau du complexe IV mais une faible partie (environ 5%) va être impliquée dans la fabrication de RLO. D'un point de vue fonctionnel, le complexe I apparaît comme la source principale de production de RLO au niveau de la chaîne respiratoire (Barja, 1999; Turrens, 2003). La production de RLO par le complexe III a été démontrée mais elle nécessite des conditions physiologiques spécifiques non présentes chez le sujet sain (Turrens *et al.*, 1985; Adam-Vizi & Chinopoulos, 2006).

Le stress oxydant est un processus physiologique ou physiopathologique résultant d'un déséquilibre entre la production de RLO et la capacité anti-oxydante de l'organisme. L'augmentation de ce stress joue un rôle important dans la signalisation cellulaire (Droge,

2002) et peut entraîner des réactions en chaîne délétères pour la mitochondrie et/ou la cellule, ayant pour cible des protéines, des lipides ou encore l'ADN mitochondriale (Turrens, 2003).

La production d'énergie aérobie dans le muscle est dépendante de la capacité à produire de l'énergie lors du processus de la phosphorylation oxydative qui se déroule à l'intérieur de la mitochondrie. La mitochondrie est une organelle composée d'une multitude de complexes protéiques qui sont tous finement régulés en fonction des besoins et des conditions du milieu cellulaire. La mitochondrie qui a un rôle fondamental dans la production d'énergie est aussi un lieu privilégié de production de radicaux libres oxygénés qui sont à l'origine de réactions délétères pour l'équilibre de la cellule.

II.3. Les substrats énergétiques de la mitochondrie

L'énergie nécessaire à la contraction musculaire est produite par trois métabolismes indépendants. Seul le métabolisme aérobie nécessite de l'O₂ et se déroule dans la mitochondrie. Pour cela, les substrats entrent dans la mitochondrie selon différentes voies en sollicitant différentes navettes avant d'être dégradés pour fournir des électrons à la chaîne respiratoire.

II.3.1. La voie du pyruvate

Lorsque le pyruvate issu de la glycolyse entre dans la mitochondrie, il est soit décarboxylé en oxaloacétate, qui est un intermédiaire du cycle de Krebs, soit il subit la décarboxylation oxydative par la pyruvate déshydrogénase (PDH) pour aboutir à la formation d'acétyl-CoA. Cette protéine entre dans le cycle de Krebs pour y être complètement oxydée en CO₂ et H₂O.

L'oxydation complète d'une molécule de pyruvate aboutit à la formation de 15 molécules d'ATP. La PDH, composée de trois sous unités (E1 : la pyruvate déshydrogénase, E2 : la déhydrolipoyl transacétase et E3 : la déhydrolipoyl déshydrogénase), nécessite cinq co-enzymes (CoA, NAD⁺, FAD⁺, acide lipoïque, thiamine pyrophosphate) pour fonctionner. L'activité de cette enzyme dépend de son état de phosphorylation. En effet, la PDH devient inactive lorsqu'elle est phosphorylée (Linn *et al.*, 1969). La phosphorylation de la PDH est effectuée par une famille de quatre kinases (PDK1-4) tandis que son activation est régulée par deux phosphatases (PDP1 et 2)(Peters, 2003). L'activité de ces kinases et phosphatases est

modulée par le pH ; sa diminution entraîne une augmentation de l'activité des kinases concomitamment à la diminution de l'activité des phosphatases (Ovadi & Saks, 2004).

Il existe une tissu-spécificité mitochondriale pour l'oxydation du pyruvate. Ainsi, les fibres oxydatives présentent une capacité supérieure à oxyder le pyruvate en comparaison aux fibres glycolytiques (Jackman & Willis, 1996; Ponsot *et al.*, 2005).

II.3.2. La voie des acides gras

II.3.2.1. Le stockage

Les acides gras sont stockés sous forme de triacylgérol (triglycérides) dans les adipocytes. Les triglycérides sont considérés comme des réserves énergétiques à long terme car l'énergie libérée par gramme est bien supérieure à celle libérée par gramme de carbohydrate. Ainsi, un adulte stocke de 8 000 à 12 000 kJ de glycogène contre plus de 300 000 kJ de triglycérides (Houston, 2001).

Les acides gras libres, qui participent à la fourniture d'énergie pour la contraction musculaire, sont libérés du tissu adipeux par la triglycéride lipase adipocytaire puis sont transportés vers le muscle par l'albumine. Ils pénètrent dans le cytosol selon un gradient de concentration et en traversant le sarcolemme grâce à des transporteurs : la FABP_{pm} (Plasma Fatty Acide Binding Protein), la FAT (Fatty Acid Translocase) et la FATP (Fatty Acid Transport Protein).

II.3.2.2. Transfert du cytosol dans la mitochondrie

Pour être utilisés par la mitochondrie, les acides gras sont activés par une enzyme, appelée acyl-CoA thokinase, qui est présente sur la membrane externe de la mitochondrie (figure 7). Cette transformation aboutit à la formation d'acyl-CoA et nécessite l'hydrolyse d'une molécule d'ATP. L'acyl-CoA, en présence de carnitine dans l'espace intermembranaire, est transformée en acyl-carnitine par la carnitine palmitoyl-transférase I (CPTI). Puis l'acyl-carnitine entre dans la matrice mitochondriale par translocation, grâce à la carnitine/acylcarnitine translocase localisée dans la membrane interne. Enfin, l'acyl-carnitine est retransformée par la carnitine palmitoyl transférase II (CPTII) en acyl-CoA d'une part, qui entre dans la β -oxydation, et en carnitine libre d'autre part, qui retourne dans le cytosol grâce à la translocase.

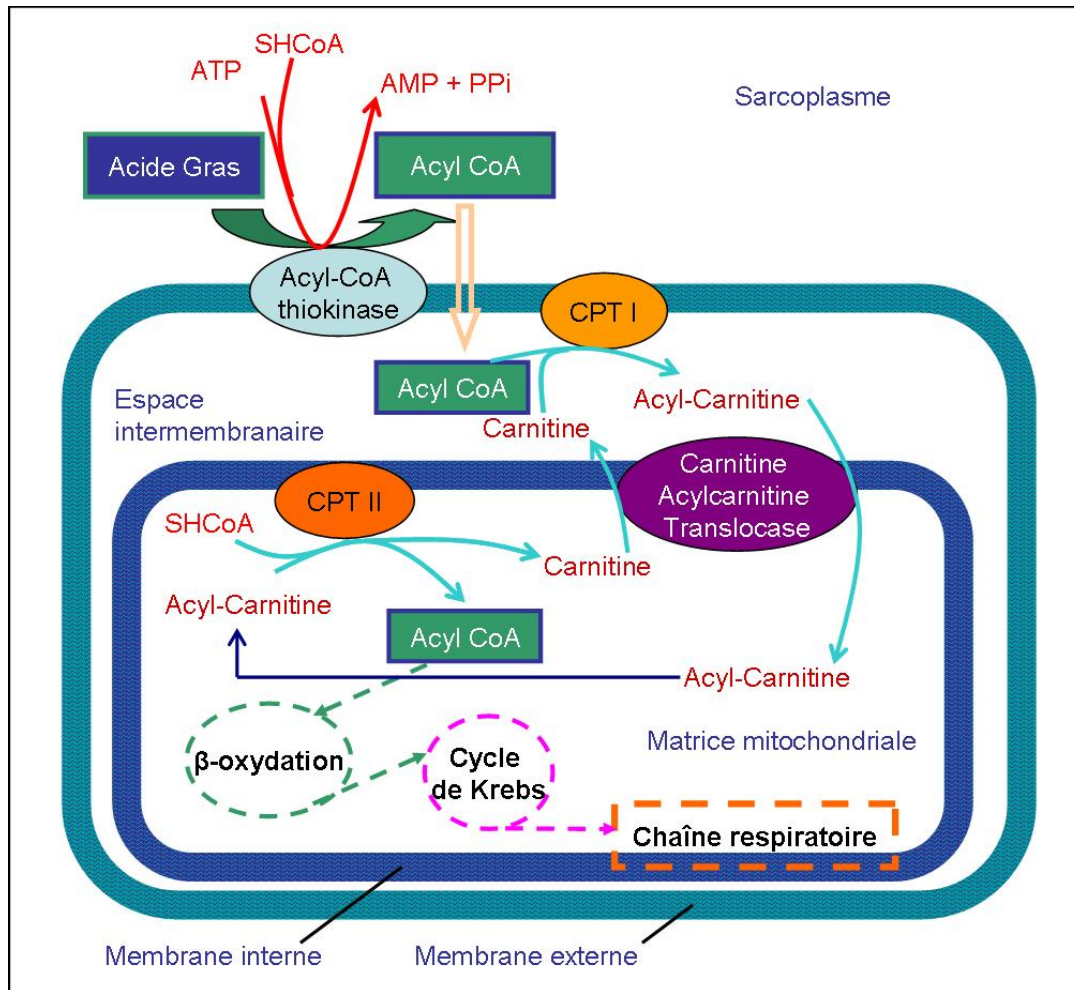


Figure 7 : Transport des acides gras vers la matrice mitochondriale.

II.3.2.3. La β -oxydation

La β -oxydation, encore appelée hélice de Lynen, catabolise l'acyl-CoA par la répétition de quatre réactions jusqu'à ce que l'acyl-CoA soit scindée en acétyl-CoA. Chaque cycle aboutit à la production de FADH_2 , $\text{NADH} + \text{H}^+$ et d'acétyl-CoA (2 au dernier tour). L'acétyl-CoA entre ensuite dans le cycle de Krebs, qui fournit de l'énergie et des protons. Ces derniers seront transportés jusqu'à la chaîne respiratoire par les équivalents réducteurs. Ainsi, le catabolisme complet d'un palmitate, qui contient 16 carbonnes, consomme 1 ATP et fournit 130 ATP.

Il existe une tissu-spécificité quant aux capacités des muscles à utiliser les acides gras, avec une oxydation supérieure dans les muscles oxydatifs (Baldwin *et al.*, 1972; Dyck *et al.*, 1997). Cette différence s'expliquerait par une plus grande quantité de transporteurs d'acides gras à longues chaînes (Bonen *et al.*, 1998) et/ou par des activités enzymatiques de la β -oxydation supérieures (Pande & Blanchaer, 1971).

II.3.3. La navette Malate/Aspartate

Cette navette permet de régénérer dans le cytosol du NAD^+ utilisé au cours de la glycolyse, en réduisant l'oxaloacétate (OOA) en malate (figure 8). Le malate est transporté dans la matrice mitochondriale par translocation au niveau de la dicarboxylate translocase. Sous l'action de la malate déshydrogénase, le malate est transformé en OOA et du NAD^+ est réduit en $\text{NADH} + \text{H}^+$ qui alimente la chaîne respiratoire pour participer à la formation d'ATP. L'OOA ne pouvant pas être transféré directement à travers les membranes mitochondriales, deux réactions de transamination permettent son transfert dans le cytosol.

Cette navette est décrite comme la navette dominante dans les fibres cardiaques et squelettiques de type I (Jackman & Willis, 1996).

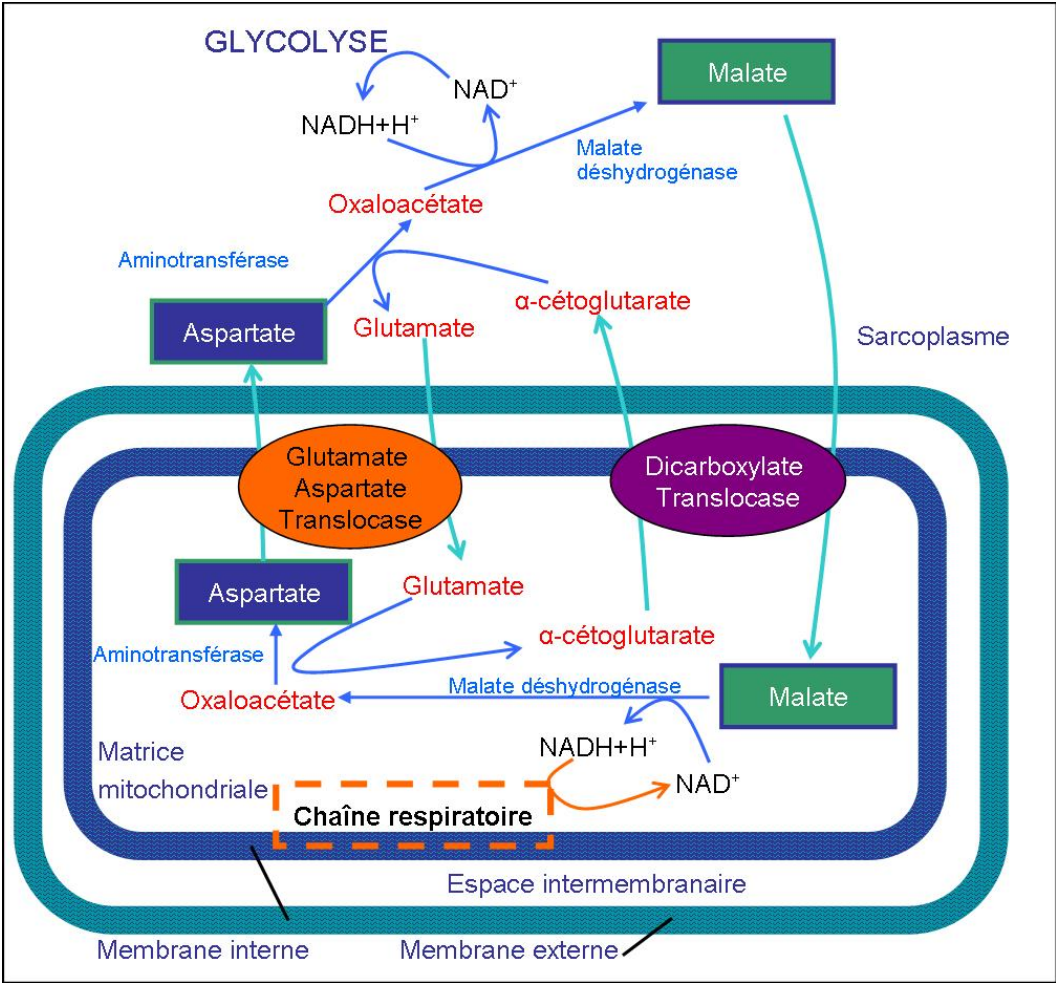


Figure 8 : Navette Malate/Aspartate

II.3.4. La navette du Glycérol-3-Phosphate

Cette navette permet la régénération cytoplasmique de NAD^+ contre la formation, au niveau de la membrane interne de la mitochondrie, de FADH_2 qui cèdera ses électrons au complexe II de la chaîne respiratoire (figure 9). Le G3-P diffuse jusqu'à la membrane interne, où la glycérol phosphate déshydrogénase le transforme en dihydroxyacétone phosphate, en réduisant le FAD^+ en FADH_2 .

La navette G3-P est essentiellement active dans les fibres squelettiques de type II (Jackman & Willis, 1996) où, shuntant le cycle de Krebs, elle asservit la fonction mitochondriale à la glycolyse, permettant ainsi la régénération rapide de NAD^+ .

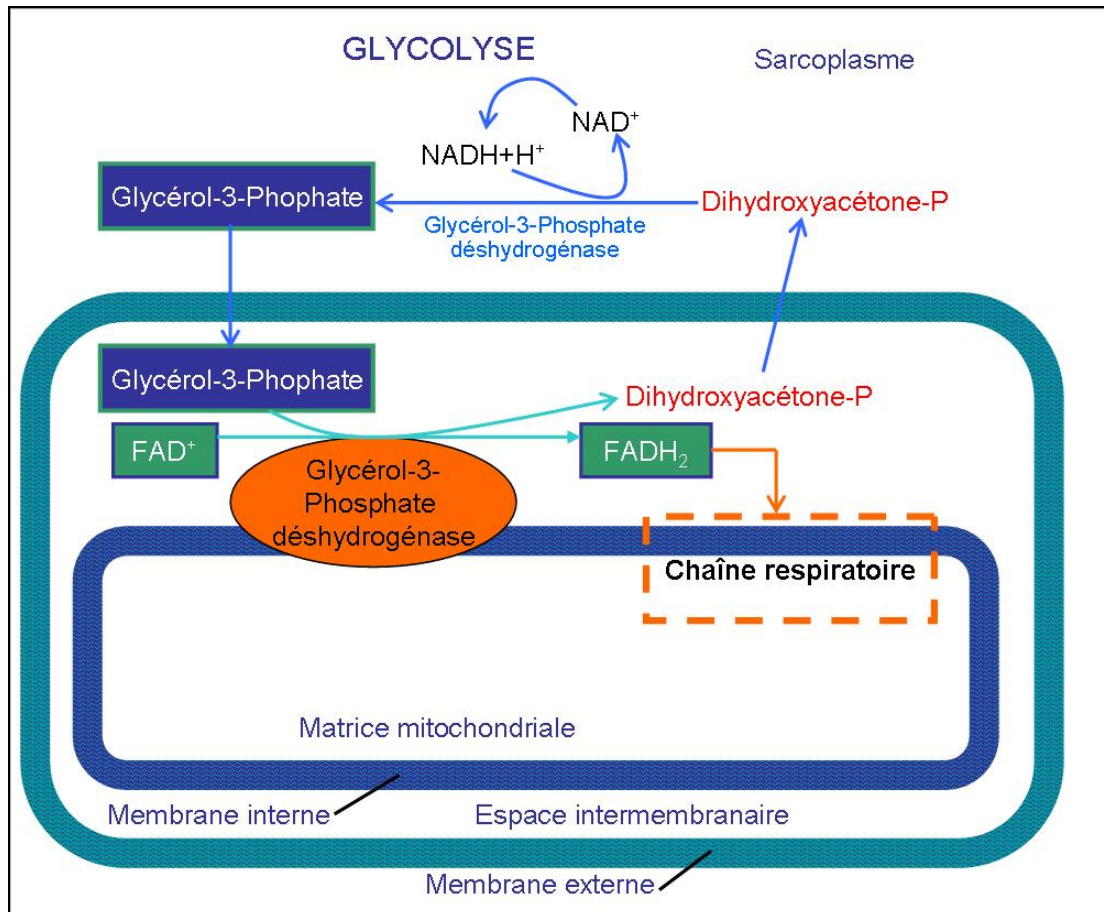


Figure 9 : Navette Glycérol-3-Phosphate

II.4. Le transfert d'énergie : le système créatine kinase

La consommation d'énergie intracellulaire se situe principalement au niveau du sarcolemme, du réticulum sarcoplasmique et des myofibrilles tandis que la production d'énergie se déroule à l'intérieur des mitochondries ou des complexes glycolytiques. Le système des créatines kinases permet de catalyser le transfert réversible d'une liaison riche en énergie entre la créatine et l'ATP ; il joue ainsi un rôle capital dans le transfert et la distribution de l'énergie.

Le système des CKs participe activement au concept d'un système métabolique organisé. Dans le muscle glycolytique, la phosphocréatine est un substrat rapidement mobilisable de la CK, qui permet la fourniture d'ATP. En effet, dans ces muscles, le réseau métabolique doit pouvoir composer avec une consommation d'ATP qui s'élève de 100 fois en quelques millisecondes. Dans le muscle oxydatif, le système des CKs assure un transfert de l'énergie vers les ATPase et un transfert du signal vers la mitochondrie. Ces transferts, rapides et efficaces, permettent le maintien de rapports ATP/ADP élevés près des sites d'utilisation. On distingue les CK myofibrillaires, du réticulum sarcoplasmique et mitochondriales.

II.5 Utilisation des substrats au cours de l'exercice

Le métabolisme énergétique utilisé lors de la contraction musculaire fait appel à trois systèmes de production distincts : le système des phosphates (anaérobie alactique), le système anaérobie lactique et le système aérobie (Astrand & Rodahl, 1970). L'utilisation de chaque métabolisme est fonction des caractéristiques de l'exercice. Pour un exercice d'endurance, au-delà d'une durée de 2-3 minutes, le système aérobie est principalement sollicité. Ce métabolisme est couplé à l'utilisation de l'O₂ afin de dégrader des carbohydrates (glucose, glycogène), des lipides (triglycérides, acides gras) et dans une moindre mesure des acides aminés (Romijn *et al.*, 1993). Il existe une interaction entre l'utilisation des glucides et des lipides au cours de l'exercice. Si le taux d'utilisation des carbohydrates est fortement lié à l'énergie requise par l'exercice musculaire, l'utilisation des lipides n'est pas autant régulé. En conséquence, le taux d'utilisation des acides gras est déterminé par le taux d'utilisation des carbohydrates et de la disponibilité des lipides (Holloszy *et al.*, 1998).

II.5.1. Rôle de l'intensité de l'exercice

L'intensité de l'exercice peut s'exprimer soit en valeur absolue, soit en valeur relative par rapport à la $\dot{V}O_{2\max}$ du sujet. Comme la $\dot{V}O_{2\max}$ varie selon les sujets, une même intensité relative peut être atteinte à des valeurs absolues différentes. L'intensité exprimée en valeur absolue détermine la quantité d'énergie nécessaire pour un exercice tandis que l'intensité relative détermine dans quelles proportions un sujet utilise les carbohydrates et les acides gras (Romijn *et al.*, 1993; Roberts *et al.*, 1996).

Pour un exercice de faible intensité, entre 20 et 30% de $\dot{V}O_{2\max}$, 70 à 90% de l'énergie est issue de l'oxydation des acides gras. Lors de l'augmentation de l'intensité relative de 40 à 85%, il y a une diminution du pourcentage d'oxydation des lipides, compensée par une augmentation de l'utilisation des carbohydrates. En plus de cette diminution relative de la contribution des lipides, une diminution absolue de la quantité de lipides oxydés est observée (Romijn *et al.*, 1993; Sidossis *et al.*, 1997).

L'utilisation du glucose plasmatique fournit de 10 à 15% de l'énergie totale, quelle que soit la quantité requise ; le glycogène musculaire fournit le complément nécessaire pour des exercices intenses (plus de 80% de $\dot{V}O_{2\max}$) (Romijn *et al.*, 1993; Roberts *et al.*, 1996). A faible intensité, de 20 à 30% de $\dot{V}O_{2\max}$, les acides gras plasmatiques fournissent la quasi-totalité des lipides oxydés tandis qu'à des intensités modérées ou intenses, les parts d'acides gras plasmatiques et de triglycérides musculaires sont équivalentes (Romijn *et al.*, 1993; Weber *et al.*, 1996).

II.5.2. Rôle de la durée de l'exercice

Au cours d'exercices modérés, de 55% à 75% de $\dot{V}O_{2\max}$, pouvant être maintenus 90 minutes ou plus, il y a une diminution progressive de l'énergie issue de l'oxydation du glycogène et des triglycérides intramusculaires, au profit de l'énergie issue des acides gras plasmatiques (Romijn *et al.*, 1993). Pour ces mêmes exercices modérés, les parts d'acides gras plasmatiques et de triglycérides musculaires sont équivalentes au cours des 30 premières minutes. Au-delà de cette durée, l'oxydation des acides gras plasmatiques augmente progressivement et compense la diminution de l'utilisation des triglycérides et du glycogène musculaire (Romijn *et al.*, 1993).

Au cours d'exercices intenses, supérieurs à 80% de $\dot{V}O_{2max}$, les stocks de glycogène permettent de maintenir l'effort pendant 60 à 90 minutes. Au-delà de cette durée, une diminution des stocks de glycogène provoque une fatigue et entraîne une diminution de la capacité de production d'énergie, entraînant une diminution de l'intensité de l'exercice.

II.5.3. Facteur influençant l'utilisation de substrats

III.5.3.1. La notion de point de croisement

Ce concept a été développé par Brooks (Brooks & Mercier, 1994; Brooks, 1997) et met en avant l'importance de l'intensité relative de l'exercice dans la détermination de la contribution des carbohydrates et des acides gras. Le point de croisement ou "crossover point" correspond à l'intensité à laquelle le substrat dominant du métabolisme oxydatif passe des acides gras aux carbohydrates (Brooks & Mercier, 1994; Brooks, 1997). Ce point se situe généralement aux alentours de 50% de la $\dot{V}O_{2max}$ chez des personnes sédentaires ; il se décale vers des valeurs plus élevées chez les sportifs qui ont une plus grande capacité à utiliser des lipides.

Une méta-analyse (Venables *et al.*, 2005) a démontré qu'une variation de plus de 12% de la capacité d'oxydation des lipides s'explique par des différences de niveaux physiques et de sexe. Les auteurs ont conclu que les mécanismes régulant la contribution relative des lipides et des glucides dans l'oxydation des substrats restent largement inexpliqués.

III.5.3.2. Influence de la typologie musculaire

Pour l'oxydation des acides gras, les fibres lentes (de type I) ont une activité enzymatique supérieure aux fibres rapides (Pande & Blanchaer, 1971). Elles présentent également des stocks intramusculaires de triglycérides plus importants (Essen *et al.*, 1975). Une étude chez le rat a démontré que les mitochondries des fibres lentes présentent une capacité d'oxydation similaire entre les acides gras et les carbohydrates. De leur côté, les fibres rapides ont une capacité d'oxydation des lipides qui ne représente que 58% de celle mesurée avec des carbohydrates (Mogensen & Sahlin, 2005). Cela démontre que la capacité d'oxydation des acides gras n'est pas uniquement liée à la densité mitochondriale mais que les caractéristiques intrinsèques des mitochondries ont leur importance. De plus, il a été observé une plus grande capacité d'oxydation des lipides dans les fibres de types I et une plus grande

sensibilité de l'ADP avec les acides gras comparée aux carbohydrates qui peut influencer l'utilisation des substrats à de faibles intensités de respiration mitochondriale.

III.5.3.3. Impact des régimes alimentaires

Les régimes alimentaires influencent significativement le point de croisement (pour revue voir (Holloszy *et al.*, 1998)). Un régime riche en lipides entraîne une augmentation de l'oxydation des lipides pour une même intensité relative. Un exercice à 65% de $\dot{V}O_{2\max}$ pour des mêmes sujets est associé à un QR de 0,92 après un régime riche en carbohydrates tandis qu'un QR de 0,81 est obtenu après un régime riche en lipides (Jansson & Kaijser, 1982). Pour ce QR l'oxydation des carbohydrates fournit 34% de l'énergie totale ; ainsi, les sujets se situent en dessous du point de croisement à 65% de $\dot{V}O_{2\max}$. Néanmoins, il n'est pas démontré que les régimes riches en lipides influencent la performance en endurance de manière positive ; certaines études relatent même des effets néfastes (Burke & Hawley, 2006). En effet, ces régimes entraînent une diminution des capacités à oxyder les carbohydrates. Stellingwerff *et al.* (Stellingwerff *et al.*, 2006) ont démontré qu'un régime riche en lipides réduisait l'activité de la PDH, une enzyme clé dans l'oxydation des carbohydrates. De même, si la performance sur 100km en cyclisme n'est pas altérée par un régime riche en lipides, la capacité à sprinter sur 4km et 1km pendant la course et donc à utiliser les carbohydrates est réduite (Havemann *et al.*, 2006).

Les régimes riches en hydrates de carbone sont eux destinés aux sportifs enchaînant plusieurs compétitions de longue durée et avec peu de récupération, comme cela est le cas en cyclisme. Chez des cyclistes très entraînés, un phénomène de surcompensation est observé le lendemain de l'ingestion d'un régime riche en carbohydrates suivant la déplétion mais aucune augmentation des stocks musculaires n'est observée lors de la répétition de ce régime (McInerney *et al.*, 2005). Certains auteurs suggèrent que le glycogène musculaire jouerait, depuis la périphérie, un rôle de signalisation dans la détermination de la stratégie à suivre pendant l'exercice (Rauch *et al.*, 2005).

Les carbohydrates et les acides gras sont les substrats dégradés dans la mitochondrie qui permettent le fonctionnement de la chaîne respiratoire et la production d'énergie. Des voies spécifiques sont utilisées par ces substrats afin d'entrer dans la mitochondrie et d'intégrer le cycle de Krebs, principal fournisseur d'électrons à la chaîne respiratoire. Leur utilisation au cours de l'exercice varie avec l'intensité de ce dernier. Si les lipides dominent la fourniture d'énergie à faible intensité, les carbohydrates sont les substrats utilisés lors d'exercice à haute intensité.

CHAPITRE III : REponses SYSTEMIQUES ET CELLULAIRES A LA STIMULATION PHYSIQUE

Les systèmes respiratoire, circulatoire et musculaire sont des structures modifiables, influencées par différentes stimulations telles que l'entraînement. L'entraînement, qu'il s'effectue en endurance, en résistance ou bien en vitesse, a un impact sur le muscle et les paramètres systémiques. Au sein même de l'entraînement en endurance, différentes modalités d'entraînement sont possibles. En variant la durée, l'intensité, la fraction inspiratoire en oxygène (hypoxie, hyperoxie) ou l'enchaînement des exercices, chaque type d'entraînement développe un effet spécifique. Ainsi, certains augmentent la $\dot{V}O_{2max}$ tandis que d'autres déplacent les seuils ventilatoires, certains influencent les capacités oxydatives musculaires pendant que d'autres modifient la typologie musculaire. Ce chapitre détaille les diverses modalités d'entraînement et leurs influences sur les variables systémiques et musculaires.

III.1. Définition du stimulus associé à l'entraînement

La performance en endurance est liée à plusieurs variables physiologiques, telles que le $\dot{V}O_{2max}$, le rendement énergétique, la capacité aérobie ou les seuils ventilatoires (Peronnet *et al.*, 1987; Bassett & Howley, 2000). D'autres variables environnementales et psychologiques influencent, elles aussi, la performance. C'est l'ensemble de ces paramètres qui détermine la progression de l'athlète à l'issue d'un programme d'entraînement (Myburgh, 2003). Cependant, la charge d'entraînement est le facteur prépondérant dans l'amélioration de la performance. Cette charge est définie par l'intensité, la durée et la fréquence des séances d'entraînement (Noakes *et al.*, 1991). Ainsi, chaque séance peut être quantifiée par les niveaux de stimulations mécaniques et métaboliques qu'elle impose.

Ces stimuli sont à l'origine de l'activation spécifique de gènes codant pour des protéines structurales et/ou fonctionnelles, impliquées dans la production d'énergie (Hood, 2001). Ils permettent d'adapter progressivement la structure et le fonctionnement du muscle aux contraintes qu'il subit, en modifiant son phénotype, afin de faciliter la production et la distribution d'énergie cellulaire.

III.1.1. La stimulation 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 demande énergétique s'accroît. L'accumulation intracellulaire d'ADP, de PCr, d'AMP, l'augmentation du rapport ADP/ATP (Hood, 2001), la diminution de la pression partielle en O₂ (Richardson *et al.*, 1995) ou encore l'accumulation de H⁺ (Wasserman, 1999) sont autant de métabolites qui stimulent l'adaptation du phénotype musculaire, *via* l'activation de voies de signalisation spécifique en réponse aux stimuli métaboliques. Ces variations définissent la perturbation de l'homéostasie cellulaire qui joue un rôle primordial dans la détermination et le contrôle du phénotype musculaire (Fluck, 2006). Ainsi, un entraînement en endurance sur une durée allant de quelques semaines à quelques mois induit une évolution des fibres musculaires vers un phénotype comprenant une densité mitochondriale plus élevée (Fluck & Hoppeler, 2003).

Pour les disciplines d'endurance, l'intensité des exercices peut être définie à partir de la puissance métabolique générée par les métabolismes aérobie et les stimuli métaboliques qui leur sont associés (Esteve-Lanao *et al.*, 2005; Seiler & Kjerland, 2006). La détermination de l'intensité métabolique peut s'effectuer par la mesure de la $\dot{V}O_2$, de la Fc ou bien de la lactatémie, exprimées en valeurs absolues ou relatives (% $\dot{V}O_{2max}$). L'utilisation de ces paramètres en fonction de leur valeur maximale ne tient pas compte des capacités individuelles à l'exercice sous maximal (Meyer *et al.*, 1999). Ainsi, un effort à 70% de la $\dot{V}O_{2max}$ ne représentera pas le même effort pour tous les athlètes. 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 de l'exercice et de la stimulation métabolique associée. La détermination des seuils métaboliques au cours d'une épreuve incrémentale exhaustive permet de définir les plages d'intensité utilisables dans la prescription de l'entraînement (Billat *et al.*, 2003; Lucia *et al.*, 2003).

III.1.2. La stimulation mécanique

La stimulation mécanique appliquée au niveau du muscle est transférée aux structures musculo-tendineuses chargées de transmettre les forces musculaires. Les tensions ainsi créées sont déterminées par des capteurs localisés autour des fibres musculaires, dans la matrice

extracellulaire et dans les tissus tendineux via les organes de Golgi (Mitchell, 1985). Ces tensions engendrent des signaux mécaniques à l'origine d'adaptations musculaires par l'augmentation de production d'ARN messagers (ARNm) (Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004). A long terme, ces adaptations visent à rendre le système musculo-tendineux plus résistant aux contraintes mécaniques et à optimiser les capacités de production et de transfert de la force musculaire (Kjaer, 2004). De plus, les facteurs mécaniques interviennent dans la modulation de l'expression mitochondriale et donc de la régulation de l'énergétique cellulaire (Hoppeler & Fluck, 2003). Ainsi, la stimulation mécanique influence positivement le volume et/ou la masse mitochondriale par l'augmentation de la transcription du gène JNK (c-jun N-terminal kinase)(Hoppeler & Fluck, 2003).

Lors d'un effort en endurance, l'individu développe une certaine puissance mécanique qui définit l'intensité avec laquelle l'exercice est effectué. La puissance mécanique externe développée s'exprime en valeur absolue (watts) ou en valeur relative par rapport à la puissance associée à la $\dot{V}O_{2\max}$ (%p $\dot{V}O_{2\max}$). Elle est mesurable à l'aide de capteurs externes qui permettent d'estimer les niveaux de tension qui sont appliqués sur les éléments structurels générateurs et transmetteurs de force.

III.1.3. Modulation de l'adaptation en réponse à l'exercice

Chaque stimulus occasionné par l'entraînement est suivi d'une phase de récupération au cours de laquelle se développe la réponse moléculaire visant à améliorer le système. Cette phase d'adaptation se déroule au cours de la phase de récupération suivant l'exercice et se traduit par une augmentation du nombre d'ARNm (Pilegaard *et al.*, 2000). Un pic de production d'ARNm s'observe donc après chaque session d'entraînement. Un enchaînement adéquat en termes de stimulations et de périodes de récupération permettra une adaptation progressive de l'organisme, entraînant l'amélioration de la performance par le phénomène de la surcompensation. La comparaison de sportifs et de sédentaires montre une transcription plus élevée chez le sportif, proportionnelle aux différences structurelles (nombre de mitochondries) et fonctionnelles (niveaux de $\dot{V}O_{2\max}$) (Fluck, 2006). Le niveau d'expression des ARNm étant proportionnel à la densité mitochondriale, la thèse du symmorphisme, qui veut un développement homogène de la structure mitochondriale et de la $\dot{V}O_{2\max}$, semble soutenue.

Les effets d'un programme d'entraînement chez les athlètes dépendent largement des stimuli, tant métaboliques que mécaniques, générés par les séances (Hickson *et al.*, 1982) et (McConnell *et al.*, 1993). La méthode la plus répandue est l'entraînement concentrique, suivant le mode continu ou par intervalles. Pour ces modalités, les stimulations métaboliques et mécaniques sont relatives à l'intensité de l'exercice. D'autres méthodes se sont progressivement répandues afin d'optimiser la performance, en développant soit le stimulus métabolique, soit le stimulus mécanique. Ainsi, l'utilisation de l'altitude crée une hypoxie qui développe le stimulus métabolique. A l'opposé, les exercices de pédalage en excentrique, pendant lesquels le muscle s'allonge en résistant à une force opposée, permettent d'augmenter spécifiquement le stimulus mécanique en minimisant le stimulus métabolique. Ce type d'exercices permet de développer des forces ou des puissances mécaniques 4 fois plus importantes que lors d'exercices classiques de pédalage pour une même $\dot{V}O_2$ (Perrey *et al.*, 2001).

En résumé, l'amélioration de la performance aérobie est déterminée par la charge associée à l'entraînement. La stimulation métabolique et mécanique associées à l'entraînement déterminent l'activation de gènes codant pour des protéines structurales et fonctionnelles qui modifient le phénotype musculaire afin d'améliorer la production et la distribution d'énergie cellulaire.

III.2. Adaptations cardiorespiratoires lors de l'entraînement en endurance

L'entraînement en endurance est associé à une amélioration des capacités maximales oxydatives et/ou de la capacité d'endurance qui sont l'expression finale de l'adaptation des systèmes cardiorespiratoire et musculaire. En partant de l'équation de Fick, l'amélioration de la $\dot{V}O_{2\max}$ résulte de l'augmentation du \dot{Q} maximal et/ou de l'amélioration de l'extraction périphérique. Si la variation de $D_{a-\bar{v}}O_2$ dépend de l'adaptation musculaire (cf chapitre III.3), le \dot{Q} représente la composante centrale et est fonction de la Fc et du VES. L'amélioration de la capacité d'endurance dépend donc de l'évolution des seuils (ventilatoires et lactiques) ainsi que du déficit en O_2 , déterminé en début d'exercice par les différentes cinétiques.

III.2.1. La consommation maximale d'O₂

L'effet de l'entraînement est dépendant de plusieurs paramètres : l'intensité, la durée et la fréquence des séances, la durée du programme d'entraînement et la capacité fonctionnelle des sujets en début de programme (Pollock *et al.*, 1977).

III.2.1.1. Influence de l'intensité

Des améliorations de la $\dot{V}O_{2\max}$ ont été rapportées pour des entraînements dont l'intensité varie de 50 à 100% de $\dot{V}O_{2\max}$ tandis que des intensités plus faibles ne semblent pas améliorer la $\dot{V}O_{2\max}$ (Wenger & Bell, 1986). Il apparaît que le stimulus minimal nécessaire à l'augmentation de la $\dot{V}O_{2\max}$ soit proche de 50% de $\dot{V}O_{2\max}$ (Gaesser & Rich, 1984) ou bien de 75% de la $F_{c\max}$ (Burke & Franks, 1975). Les intensités supérieures à 100% sont moins efficaces car elles induisent une fatigue précoce et réduisent le volume d'entraînement (Magel *et al.*, 1975). De même, l'entraînement en force est inefficace sur la $\dot{V}O_{2\max}$ car la demande énergétique associée à la séance de musculation ne sollicite qu'un faible pourcentage de la $\dot{V}O_{2\max}$ (Hurley *et al.*, 1984b).

III.2.1.2. Influence de la fréquence d'entraînement

Combinée à une intensité définie, la fréquence d'entraînement influence positivement le gain de $\dot{V}O_{2\max}$. La fréquence optimale pour obtenir les meilleures progressions est de quatre séances d'entraînement par semaine, à une intensité comprise entre 90 et 100% de la $\dot{V}O_{2\max}$ (Wenger & Bell, 1986). La pratique de quatre entraînements entre le lundi et le vendredi ou de deux entraînements le week-end développe de manière similaire et significative la $\dot{V}O_{2\max}$ pour une dépense énergétique identique dans les deux méthodes d'entraînement (Meyer *et al.*, 2006).

III.2.1.3. Influence de la durée

Des gains de $\dot{V}O_{2\max}$ sont mesurables pour des durées d'entraînement de 15 à 45' associées à des intensités de travail de 50 à 100% de la $\dot{V}O_{2\max}$. Effectuer des entraînements de courtes durées à hautes intensités ou de longues durées à des intensités inférieures produit des gains similaires (Gaesser & Rich, 1984). Billat *et al.* (Billat *et al.*, 1999) préconisent un entraînement sollicitant $\dot{V}O_{2\max}$ pendant 2,5 fois la durée du temps de maintien d'un effort à 100% de la $\dot{V}O_{2\max}$, alterné avec des périodes de récupération de même durée, pour obtenir un développement optimum de la $\dot{V}O_{2\max}$. Si la répétition plusieurs fois par semaine de ce type d'entraînement n'est pas néfaste pour la performance, la pratique d'une telle séance une fois par semaine en plus de l'entraînement habituel améliore la $\dot{V}O_{2\max}$ (Billat *et al.*, 1999). A haute intensité, lorsque la durée d'entraînement augmente, les fibres lentes se fatiguent et elles sont supplées par le recrutement de fibres rapides. Ainsi, c'est l'augmentation du potentiel oxydatif des fibres rapides qui permet l'augmentation significative de la $\dot{V}O_{2\max}$ (Holloszy & Coyle, 1984).

III.2.1.4. Influence du niveau basal

Pour un même entraînement, plus la $\dot{V}O_{2\max}$ initiale est faible, plus le gain est grand et cela d'autant plus que l'intensité de l'exercice est proche de 100% (Wenger & Bell, 1986; Saltin, 1990). Un entraînement identique prescrit chez des footballeurs professionnels et des athlètes d'endurance a donné de meilleurs résultats chez ceux présentant une $\dot{V}O_{2\max}$ de départ plus faible (Helgerud, 1994; Helgerud *et al.*, 2007).

III.2.1.5. Comparaison de modalités d'entraînement

Afin de déterminer le mode d'entraînement le plus efficace, des études ont comparé l'impact des modalités sur la $\dot{V}O_{2\max}$. Peu d'études ont imposé une dépense énergétique, une durée et une fréquence d'entraînement similaires. Overend *et al.* (Overend *et al.*, 1992) ont conclu que l'entraînement par intervalles à 80% de $\dot{V}O_{2\max}$ n'offrait pas d'avantage, comparé à un exercice continu, dans l'amélioration des paramètres aérobie chez les hommes

sédentaires. A l'opposé, d'autres études ont démontré que l'entraînement par intervalles était plus bénéfique ; cependant, les intensités prescrites lors de l'intervalle étaient supérieures à l'étude d'Overend ($>$ à 85% de $\dot{V}O_{2max}$ ou de F_{cmax}) (Thomas *et al.*, 1984)(Rognmo *et al.*, 2004)(Helgerud *et al.*, 2007)(Wenger & Bell, 1986). D'anciennes études défendaient l'idée que l'augmentation de la durée de l'entraînement continu permettait d'obtenir des résultats similaires à l'entraînement par intervalles à hautes intensités (Pollock *et al.*, 1977; Overend *et al.*, 1992). Pourtant, une étude récente comparant différents modes d'entraînement, avec une dépense énergétique et une fréquence similaires, a prouvé l'effet inverse (Helgerud *et al.*, 2007).

III.2.2. Le débit cardiaque

En réponse à l'entraînement en endurance, et pour une même intensité absolue, le \dot{Q} reste identique ou diminue alors que la Fc diminue et le VES augmente (Wilmore & Costill, 1999). A l'exercice maximal, l'augmentation du \dot{Q}_{max} après un entraînement en endurance participe à l'augmentation de la $\dot{V}O_{2max}$ (Ogawa *et al.*, 1992; Stratton *et al.*, 1994; McGuire *et al.*, 2001). Toutefois, une étude chez des femmes âgées de plus de 60 ans a montré une amélioration de la $\dot{V}O_{2max}$ sans variation du \dot{Q}_{max} (Spina *et al.*, 1993). Ces résultats vont à l'encontre des données obtenues chez les hommes d'âges similaires ; ce qui suggère une adaptation différenciée de la part de femmes âgées pour améliorer la $\dot{V}O_{2max}$.

III.2.2.1. Modification du VES par l'entraînement

L'augmentation de \dot{Q} se fait par une augmentation du VES (pour revue voir (Vella & Robergs, 2005b)). Au cours du cycle cardiaque, les sujets entraînés ont une durée d'éjection supérieure comparée à leur durée initiale, associée à une diastole plus courte. Cela suggère que l'entraînement augmente la vitesse du remplissage ventriculaire. L'amélioration de la fonction cardiaque s'explique par une tension artérielle plus faible chez le sportif qui diminue la postcharge et facilite ce remplissage ventriculaire (Gledhill *et al.*, 1994; Krip *et al.*, 1997). D'autres facteurs sont avancés pour expliquer l'amélioration du VES : l'entraînement permet d'augmenter la contractilité du myocarde (Vanfraechem, 1979; Sullivan *et al.*, 1991), une augmentation du diamètre du ventricule associée à une augmentation de sa masse participent à

l'accroissement du VES (Finkelhor *et al.*, 1986; Hoogsteen *et al.*, 2003). Ainsi, ces ajustements influencent la précharge cardiaque qui permet une meilleure application de la loi de Starling (Vella & Robergs, 2005b).

III.2.2.2. Modification de la fréquence cardiaque par l'entraînement

Lors d'exercices sous maximaux, la Fc diminue, selon le programme d'entraînement, de 10 à 20 bpm pour une même intensité absolue. Elle est compensée par une augmentation du VES afin de maintenir un \dot{Q} stable (Zavorsky, 2000). Par contre, à l'effort maximal, l'effet de l'entraînement aérobie sur la Fc_{max} fait toujours débat. Certaines études n'observent pas de changement tandis que d'autres révèlent une baisse de la Fc_{max} après entraînement (pour revue voir (Zavorsky, 2000)). Si les mécanismes fins régulant la variation de la Fc doivent être encore précisés, le regroupement des données de plusieurs études a permis de mettre en évidence une corrélation importante ($r=0,76$) entre l'augmentation de $\dot{V}O_{2max}$ et la diminution de la Fc_{max} (Zavorsky, 2000). Plusieurs hypothèses sont émises pour expliquer cette diminution de Fc_{max} et impliquerait l'hypervolémie, les barorecepteurs ou des modifications structurelles (Lewis *et al.*, 1980; Kingwell *et al.*, 1992; Krip *et al.*, 1997).

III.2.3. Les seuils ventilatoires et lactiques

Les seuils ventilatoires et lactiques étant de bon indices de la performance, plusieurs études se sont focalisées sur l'effet de l'entraînement en endurance sur les seuils (pour revue voir (Jones & Carter, 2000)). Ainsi, un déplacement des seuils vers des intensités d'exercice plus élevées résulte d'un entraînement dont les intensités sont adéquates et supérieures ou proches de l'intensité associée au seuil (Hurley *et al.*, 1984a; Londeree, 1997). Cette adaptation correspond à une augmentation de l'intensité en valeur absolue ou bien en valeur relative (en % de $\dot{V}O_{2max}$) et permet de maintenir une intensité plus élevée sans accumulation de lactates.

Meyer *et al.* (Meyer *et al.*, 2006) ont constaté que l'entraînement continu à 90% du seuil lactique entraînait un plus grand développement de l'intensité associée au seuil qu'un entraînement continu à une fréquence cardiaque inférieure de 15 bpm sollicitant la même dépense énergétique totale. Keith *et al.* (Keith *et al.*, 1992) ont démontré que l'entraînement

continu au seuil lactique ou l'entraînement intermittent au dessus et en dessous du seuil développe de manière similaire le seuil lactique.

III.2.4. Les cinétiques d'ajustement à l'exercice

III.2.4.1. Modification de la composante rapide par l'entraînement

En général, l'amplitude de la cinétique de $\dot{V}O_2$ n'est pas modifiée par l'entraînement en endurance (Davis *et al.*, 1979; Hagberg *et al.*, 1980). Par contre la vitesse d'ajustement de la cinétique est plus rapide après entraînement (Hagberg *et al.*, 1980; Phillips *et al.*, 1995). La comparaison entre des sportifs et des actifs ou des sédentaires a permis de démontrer l'importance de la $\dot{V}O_{2\max}$ dans l'ajustement de la cinétique de $\dot{V}O_2$ (Hagberg *et al.*, 1980; Chilibeck *et al.*, 1996). Aussi, les sujets présentant une $\dot{V}O_{2\max}$ élevée s'ajustent plus rapidement à l'exercice, pour une même intensité absolue ou relative. Un ajustement plus rapide permet d'atteindre rapidement l'équilibre cellulaire permettant un meilleur contrôle de l'exercice (Hochachka & Matheson, 1992; Cadefau *et al.*, 1994). Différents mécanismes sont avancés pour expliquer l'accroissement de cette vitesse, il peut s'agir d'un apport plus rapide de l' O_2 au muscle et/ou de la réduction de l'inertie du métabolisme aérobie (Phillips *et al.*, 1995; Grassi *et al.*, 1996). L'entraînement continu ou par intervalles améliore de manière similaire les cinétiques de $\dot{V}O_2$ pour des exercices d'intensité faible et modérée chez des sédentaires (Berger *et al.*, 2006).

III.2.4.2. Modification de la composante lente par l'entraînement

L'entraînement influence également la composante lente de cinétique de $\dot{V}O_2$ en la diminuant pour des intensités absolues identiques (Pollock *et al.*, 1975; Womack *et al.*, 1995; Berger *et al.*, 2006). La réduction du taux de lactates sanguins, de la ventilation, de la fréquence cardiaque et du niveau de catécholamines plasmatiques qui accompagnent l'entraînement en endurance peuvent expliquer partiellement la réduction du coût en O_2 de l'exercice. Mais il semble que le recrutement supplémentaire des fibres musculaires de type I ait plus d'importance dans la diminution de l'amplitude de la composante lente (Poole *et al.*, 1991; Barstow *et al.*, 1996).

L'entraînement de type aérobie permet le développement des capacités fonctionnelles avec une augmentation de la consommation maximale d'O₂, un accroissement des capacités d'endurance et une accélération de cinétiques de la consommation d'O₂. Ces améliorations dépendent des caractéristiques du programme d'entraînement représentées par la durée, l'intensité et la fréquence des séances d'entraînement. L'impact de la modalité d'entraînement (continu vs. intervalle) sur les capacités fonctionnelles est toujours source de débat. En effet, la comparaison est rendue difficile par le nombre de variables à étudier. Beaucoup d'études comparent les modalités induisant une même dépense énergétique mais les durées des séances sont différentes et peuvent biaiser les résultats. De ce fait, la comparaison d'entraînements à charge variable vs. entraînements à charge constante proposant une même dépense énergétique globale et une même durée d'entraînement permettrait d'identifier plus clairement l'effet de la modalité d'entraînement sur les paramètres systémiques.

III.3. Réponses musculaires à l'entraînement en endurance

III.3.1. Amélioration de l'extraction d'O₂

Deux mécanismes sont impliqués dans cette amélioration : l'augmentation du \dot{Q}_{musc} permet un apport plus important d'O₂ au muscle et le développement du réseau capillaire amplifie la surface d'échange entre les compartiments sanguin et musculaire. La comparaison de souris, ayant des capacités d'exercices fortement différentes, a démontré qu'une augmentation de la capacité d'extraction de l'O₂ à travers les générations, sans modification du \dot{Q}_{max} , est à l'origine des différences de performances (Gonzalez *et al.*, 2006). Ces résultats soulignent l'importance de l'adaptation musculaire dans l'amélioration des performances aérobies.

III.3.1.1. Amélioration du débit sanguin musculaire

L'entraînement en endurance entraîne une augmentation du \dot{Q}_{musc} dans les muscles actifs lors d'exercices à intensités identiques ou lors d'efforts maximaux (Shoemaker *et al.*, 1996; Krustup *et al.*, 2004b). Les mécanismes de régulation du débit musculaire sont en grande partie non déterminés et les raisons expliquant l'augmentation de débit à même intensité sont spéculatives (Clifford & Hellsten, 2004). A l'effort maximal, l'augmentation du

\dot{Q}_{musc} s'explique notamment par un \dot{Q} plus important mais aussi par une meilleure redistribution du flux sanguin. Plusieurs mécanismes régulant le \dot{Q}_{musc} sont susceptibles d'évoluer avec l'entraînement. Le \dot{Q}_{musc} est fortement lié à l'utilisation d'O₂ pendant l'exercice (Andersen & Saltin, 1985; Richardson *et al.*, 1999). Une corrélation entre la saturation de l'hémoglobine en O₂ et la conductance musculaire des jambes, observée chez l'homme, confirme cette relation et suggère que les érythrocytes sont d'importants régulateurs du \dot{Q}_{musc} dans le muscle (Bangsbo *et al.*, 2001). Les augmentations de la masse musculaire et de la densité capillaire, grâce à l'entraînement, induisent un accroissement du volume sanguin qui facilite l'augmentation du débit. De plus, cet accroissement du réseau capillaire permet une plus grande vasodilatation *via* l'augmentation de l'activité d'enzymes vasodilatatrices situées dans les cellules endothéliales, qui servent à réguler le débit musculaire (Hillig *et al.*, 2003).

III.3.1.2. Réponses du réseau capillaire à l'entraînement

De très nombreuses études, réalisées chez l'homme et sur des modèles animaux, ont permis de vérifier l'augmentation de la densité du réseau capillaire en réponse à l'entraînement en endurance (Brodal *et al.*, 1977; Adolfsson *et al.*, 1981). L'enrichissement du réseau capillaire, qui se traduit entre autre par une augmentation du nombre de capillaires autour de chaque fibre, se fait de manière homogène quel que soit le type de fibres, oxydatives ou glycolytiques (Andersen & Henriksson, 1977). Cette réponse homogène du réseau capillaire contribue largement à améliorer l'approvisionnement du muscle en O₂ et substrats. L'arrangement spatial des capillaires permet une meilleure oxygénation tissulaire (Poole *et al.*, 1989). Un entraînement en endurance pendant quatorze semaines, a permis de démontrer une amélioration de la $\dot{V}O_{2\text{max}}$, ainsi qu'une modification de l'arrangement vasculaire qui se traduit par une augmentation de la sinuosité capillaire (Charifi *et al.*, 2004).

Le mécanisme mis en jeu au cours de cette croissance des capillaires, appelé angiogenèse, résulte de l'enchaînement de plusieurs étapes. Il débute par l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la déstructuration de la membrane basale des vaisseaux, puis se poursuit par la multiplication, la migration et la différenciation des cellules endothéliales pour former la trame du nouveau vaisseau, et se termine par la restructuration des parois

vasculaires. Ce processus est contrôlé par des facteurs stimulants et inhibiteurs qui permettent un contrôle fin de l'angiogenèse (Folkman & Shing, 1992).

Le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) est décrit comme le principal et le plus puissant facteur angiogénique. Il agit sur les cellules endothéliales par son action mitogène et intervient dans la perméabilisation des parois. L'hypoxie intracellulaire stimule la production de VEGF en activant le facteur de transcription HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor-1) (Goldberg & Schneider, 1994). D'autres facteurs moléculaires participent au contrôle physiologique de l'angiogenèse, mais probablement à un degré moindre que le VEGF ; ces facteurs sont le bFGF (basic Fibroblast Growth Factor), le PDGF (Platelet-Derived Growth Factor-), le TGF- (Transforming Growth Factor-), les angiopoïétines-1, -2, et la leptine.

L'une des hypothèses actuelles est que l'hypoxie musculaire locale, induite par l'exercice, représenterait un stimulus important de l'angiogenèse musculaire, notamment par l'intermédiaire du gène VEGF. On a pu montrer que l'expression du gène VEGF, à la fin de l'exercice, était majoritaire au sein des fibres les plus glycolytiques (les moins vascularisées), et qu'elle était associée à l'expression d'autres gènes sensibles à l'O₂ (Biro *et al.*, 2003). Il semble que l'angiogenèse induite par l'exercice n'ait pas exclusivement pour origine des facteurs métaboliques, mais qu'elle pourrait également être expliquée par des contraintes hémodynamiques appliquées aux cellules endothéliales. L'exercice exhaustif s'accompagne en effet d'une élévation du flux sanguin, des forces de tension et de cisaillements sur les parois vasculaires. Ainsi, les facteurs que l'on sait maintenant être augmentés à l'exercice, tel que le VEGF, sont certainement stimulés par plusieurs cascades de signalisations cellulaires, qui dépendent aussi bien de stimuli métaboliques (liés principalement à la baisse de la tension locale de l'O₂) qu'hémodynamiques.

III.3.2. Modification du phénotype musculaire

III.3.2.1. Phénotype contractile

L'entraînement prolongé en endurance se traduit par une diminution de l'expression des formes les plus rapides des chaînes lourdes de la myosine (MHC) (MHC-IIb et/ou MHC-IIx), essentiellement au profit de la forme rapide associée à un métabolisme énergétique oxydatif (MHC-IIa), beaucoup plus rarement au profit de la forme lente (MHC-I) (Booth & Thomason, 1991). Trois principales voies de signalisations intracellulaires semblent être impliquées dans le contrôle de l'expression des isoformes de MHC, assurant ainsi la transduction des signaux générés par les potentiels d'action des motoneurones vers les gènes

(Talmadge, 2000). Il s'agit de la voie des MRFs (myogenic regulatory factors), d'une voie de signalisation calcique comprenant la calcineurine et un facteur de transcription de la famille des NF-AT (nuclear factor of activated T cell), et de la cascade des MAPkinases (mitogen-activated protein kinases)(pour revue voir (Bigard, 2004)).

III.3.2.2. Phénotype métabolique

L'augmentation des capacités oxydatives musculaires est l'une des réponses les plus précoces à l'entraînement en endurance. Cet entraînement en endurance se traduit par une augmentation de l'activité de très nombreuses enzymes impliquées dans le métabolisme oxydatif (Holloszy & Coyle, 1984; Hood, 2001). Pourtant, des données récentes ont permis de montrer que ce type d'entraînement induisait non seulement une augmentation du pool musculaire de mitochondries, mais aussi de profondes modifications de l'activité fonctionnelle de ces organelles, avec une altération du ratio protéines/lipides dans la mitochondrie (Hood *et al.*, 2006).

Différents évènements se déroulent depuis la contraction musculaire jusqu'à la biogenèse mitochondriale (figure 10).

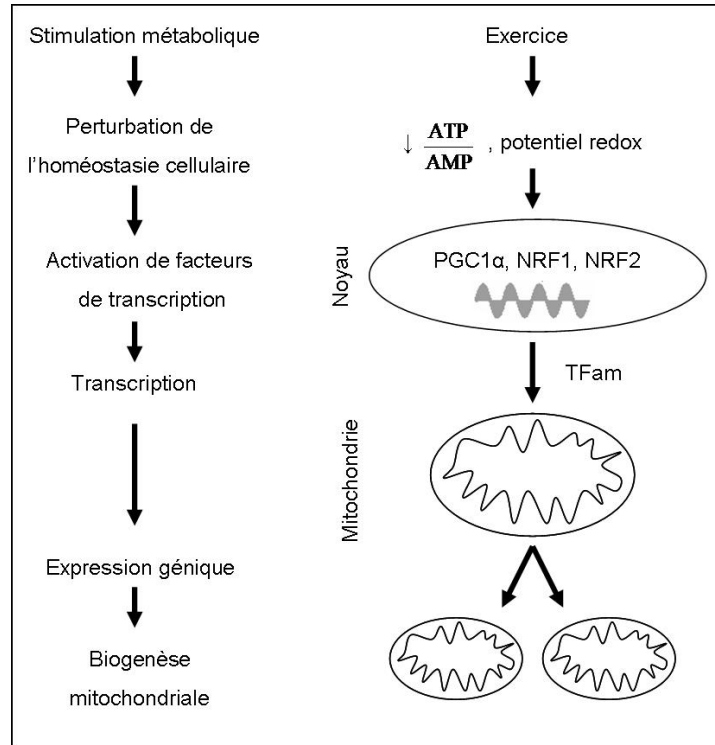


Figure 10 : Biogenèse mitochondriale. L'activité physique entraîne des perturbations de l'homéostasie cellulaire. Ces perturbations stimulent l'activation de facteurs de transcription (PGC1 α , NRF1, NRF2) au niveau du noyau et induisent la production de Tfam qui participe à la transcription et la réplication du génome mitochondrial.

○ Les signaux associés à l'activité contractile :

▪ Calcium, ATP et RLO :

De nombreux signaux apparaissent avec la contraction musculaire et initialisent la signalisation entraînant la synthèse de protéines. Ces changements incluent les flux calciques, la consommation d'ATP et d'O₂. Le calcium est impliqué dans la régulation de nombreux gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales (Ojuka *et al.*, 2003). L'AMPK, enzyme cytosolique, est activée par le stress cellulaire qui réduit le ratio ATP/ADP et élève le taux d'AMP par l'activité de la myokinase. Son activité est accrue lors de l'exercice (Fujii N Hayashi 2000) et entraîne l'augmentation de l'activité de la citrate synthase et du contenu mitochondrial en UCP3 (Putman *et al.*, 2003). Ainsi, l'activation de l'AMPKinase (AMPK) est associée à la biogenèse mitochondriale. Par ailleurs, la multiplicité des voies impliquées dans la plasticité musculaire est soulignée par une étude démontrant l'activation de certains gènes chez des souris dépourvues d'AMPK (Jorgensen *et al.*, 2005). La quantité de RLO produite augmente avec l'activité contractile, principalement par des réactions extra-mitochondriales, car la production de RLO d'origine mitochondriale diminue avec l'activation de la respiration (Pattwell & Jackson, 2004; Pattwell *et al.*, 2004). Ces RLO sont impliqués dans la diminution de l'expression de certains facteurs de transcription (HSF, AP-1, Egr-1) et ont donc un effet négatif sur la biogenèse mitochondriale (Pattwell & Jackson, 2004).

▪ Activation de protéine kinase :

L'altération de l'homéostasie cellulaire par l'exercice active des kinases et des phosphatases qui stimulent certains facteurs de transcription (Nader & Esser, 2001). La réponse dépend du type, de l'intensité et de la durée de l'exercice mais aussi de la typologie musculaire (Nader & Esser, 2001; Sakamoto *et al.*, 2002). L'activation chronique de ces signaux entraîne l'expression de gènes nucléaires et mitochondriaux qui provoquent une adaptation phénotypique et améliorent la performance en endurance (Hood, 2001).

▪ Expression génique :

Les signaux associés à la contraction musculaire précédemment décrite induisent l'expression d'ARN messagers (ARNm) codant pour des facteurs de transcription qui régulent le phénotype musculaire (Irrcher & Hood, 2004). Il est démontré que l'augmentation de l'expression des ARNm des facteurs de transcription précède la régulation mitochondriale ((Connor *et al.*, 2001; Irrcher *et al.*, 2003; Pilegaard *et al.*, 2003). L'activité contractile est

s suivie de l'expression immédiate de certains gènes, protéines ou facteurs nucléaires tels que c-fos, c-jun, Sp1 ou encore Egr-1 qui participent à la régulation de la transcription de protéines mitochondriales. Leur activation se déroule dans les quatre premières heures suivant l'exercice mais au bout de 24h, leur niveau d'expression retrouve leur valeur basale (Pilegaard *et al.*, 2000).

○ Le facteur PGC-1 α :

La découverte de PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α) est un évènement majeur dans la compréhension de la biogenèse mitochondriale et de l'augmentation de la respiration cellulaire (Wu *et al.*, 1999; Lehman *et al.*, 2000). PGC-1 α régule la transcription de Tfam via une co-activation de NRF1 (Wu *et al.*, 1999). Ainsi, PGC-1 α agit comme un régulateur de l'expression génique nucléaire et mitochondriale, ce qui en fait une protéine clé du contrôle de la biogenèse.

La répétition d'exercices entraîne une accumulation progressive de PGC-1 α qui, associée à l'augmentation de NRF1, permet d'activer l'expression de Tfam (Baar *et al.*, 2002; Irrcher *et al.*, 2003). Une étude chez des souris, dont l'activation de PGC-1 α est inhibée, a démontré une forte diminution de la fonction mitochondriale (Leone *et al.*, 2005). Ces résultats confirment le rôle primordial de PGC - 1 α dans la régulation de la biogenèse, mais le fait qu'une faible activité persiste sous-tend qu'il existe d'autres mécanismes de régulation. Une étude récente sur des myoblastes a montré que le pyruvate joue un rôle dans la biogenèse sans faire intervenir l'expression de PGC-1 α (Wilson *et al.*, 2007). Cette étude suggère donc l'existence d'une nouvelle voie dans la régulation de la biogenèse, qui nécessitera de nouvelles explorations.

○ Le facteur de transcription Tfam :

La biogenèse mitochondriale requiert l'expression des génomes nucléaires et mitochondriaux pour assurer un développement homogène de l'organelle. La réplication et la transcription de l'ADN mitochondrial sont régulées indépendamment du génome nucléaire mais dépendent de l'expression et de l'importation de plusieurs facteurs nucléaires. Une des protéines les plus importantes est Tfam (mitochondrial transcription factor A) qui est activée par NRF1 et importée dans la mitochondrie via Tom20 (Grey *et al.*, 2000). L'exercice développe son expression chez l'homme (Lezza *et al.*, 2001).

- L'assemblage des complexes de la chaîne respiratoire :

La capacité de la mitochondrie à produire de l'énergie dépend du fonctionnement des complexes de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne. L'assemblage de ces complexes est unique car il nécessite un montage coordonné de sous-unités issues des génomes nucléaire et mitochondrial.

L'assemblage du complexe IV (COX), accepteur final des électrons, est le plus difficile car il nécessite l'association de treize sous-unités d'origine nucléaire et mitochondriale et requiert différentes protéines accessoires (SCO1, SCO2, COX 10 et Surf-1) ((Nijtmans *et al.*, 1998; Barrientos *et al.*, 2002; Carr & Winge, 2003). Les trois sous-unités formant la structure centrale et catalytique de la COX (COX I-III) sont d'origine mitochondriale tandis que les autres sous-unités sont d'origine nucléaire et doivent être importées dans la mitochondrie (Capaldi, 1990). D'autre part, une tissu-spécificité de ce complexe a été démontrée avec des isoformes différents selon les fibres musculaires (Linder *et al.*, 1995).

III.3.3. Utilisation des substrats

L'utilisation des différentes voies métaboliques est largement influencée par l'entraînement en endurance. Aussi, la contribution relative des carbohydrates et des acides gras varie avec le niveau d'entraînement (Brooks & Donovan, 1983; Coggan, 1997). Il est rapporté une utilisation accrue des acides gras après un entraînement lorsque l'intensité relative est identique (Holloszy & Coyle, 1984). Les sujets entraînés utilisent donc moins les carbohydrates au détriment de l'oxydation d'acides gras (Coggan *et al.*, 1990; Coggan *et al.*, 1995). Aussi, chez des cyclistes et des triathlètes de haut-niveau, s'entraînant au minimum quatre fois par semaine pendant 2h depuis au moins cinq ans, il est mesuré une plus grande contribution des acides gras lors d'un effort à 60% de $\dot{V}O_{2\max}$ comparés à des sédentaires (Jeukendrup *et al.*, 1997). De plus le contenu intracellulaire en lipides est augmenté chez les sujets entraînés (Hoppeler *et al.*, 1973). Six semaines d'entraînement permettent de doubler les stocks de lipides, le volume cellulaire des lipides passant de 0,42 à 0,97% (Hoppeler *et al.*, 1985).

Cependant, au cours d'un exercice à haute intensité, la capacité d'un sportif à utiliser des carbohydrates est supérieure à celle d'un sédentaire (Brooks & Mercier, 1994). Ainsi, les capacités musculaires de transport et d'utilisation du glucose à l'exercice sont augmentées par

l'entraînement comme l'atteste l'augmentation de l'activité de l'hexokinase et la réduction intramusculaire de la concentration de glucose au cours de l'exercice (Fluck, 2006). De même, Kjaer *et al.* (Kjaer *et al.*, 1986) ont démontré, au cours d'un exercice, une augmentation de la concentration sanguine en glucose supérieure chez les athlètes lors de la transition de 60 à 110% de la $\dot{V}O_{2max}$. L'insuline semble avoir un rôle majeur dans l'augmentation du taux de glucose sanguin. En effet, l'entraînement améliore la sensibilité à l'insuline et une diminution plus faible de ce taux est observée au cours de l'exercice chez des athlètes (Cotes *et al.*, 1988).

Si l'augmentation de l'utilisation des acides gras est généralement acceptée, les mécanismes à l'origine des adaptations ne sont pas clairement établis. Cependant, des investigations sur le *tibialis antérieur* de duathlètes ont révélé une augmentation des facteurs de transcription impliqués dans les adaptations structurelles et fonctionnelles du métabolisme des lipides (Schmitt *et al.*, 2003).

En résumé, le muscle est un organe extrêmement malléable, notamment par l'entraînement en endurance. Le réseau capillaire, la capacité d'extraction et d'utilisation de l'O₂ sont augmentés avec l'entraînement en endurance et participent à l'amélioration des capacités oxydatives musculaires. Les phénotypes contractile et métabolique s'orientent majoritairement vers un phénotype de type oxydatif. L'utilisation des substrats énergétiques est modifiée par l'entraînement avec une utilisation accrue des lipides. Si les mécanismes à l'origine de la biogenèse sont identifiés, l'influence de la modalité d'entraînement sur celle-ci n'est pas clairement établie. L'augmentation de la population mitochondriale avec l'entraînement en endurance est acquise, cependant l'influence de celui-ci sur la capacité mitochondriale à oxyder les substrats reste à démontrer.

III. 4. Réhabilitation et maladies chroniques

L'entraînement en endurance, s'est développé depuis le début des années 1980 notamment dans le cadre de l'IC. Son utilisation se justifie particulièrement par son effet positif sur les adaptations périphériques jouant un rôle majeur dans l'incapacité à l'exercice (Cohen-Solal *et al.*, 1999; Mador & Bozkanat, 2001). L'entraînement permet de modifier à la fois la morphologie et le métabolisme musculaire (Mador & Bozkanat, 2001). Ces adaptations permettent une augmentation de la $\dot{V}O_{2pic}$, un déplacement des seuils ventilatoires. Ainsi, le

\dot{Q}_{musc} maximal et l'extraction de l'O₂ augmentent après une période d'entraînement (Sullivan *et al.*, 1988). Les capacités oxydatives musculaires sont améliorées et influent le $\dot{V}O_{2\text{pic}}$ (Hambrecht *et al.*, 1995). La fonction cardiaque est améliorée à travers la modification des dimensions ventriculaires et de la Fc. De plus, la réhabilitation, chez les IC, améliore ou protège le métabolisme énergétique cardiaque (pour revue voir (Ventura-Clapier *et al.*, 2007).

Afin d'améliorer la qualité de vie de ces patients, plusieurs modalités d'entraînement sont proposées. L'entraînement en endurance peut se faire suivant le mode continu ou intermittent et cela à différentes intensités. Des exercices développant la force peuvent être effectués ou ajoutés à l'entraînement en endurance. Tous ces entraînements permettent de diminuer la dysfonction musculaire associée aux pathologies mais les résultats diffèrent en terme de bénéfice. Ainsi, il semble que l'entraînement continu et en intervalle améliore de manière similaire la qualité de vie, que l'entraînement à haute intensité est plus efficace mais qu'il est difficile à mettre en pratique (Puhan *et al.*, 2005). Aussi, de nouvelles recherches doivent être menées afin de déterminer avec plus de précision les effets des différentes modalités et de connaître quels sont les mécanismes adaptatifs qui y sont associés.

Conclusion générale :

L'entraînement en endurance permet le développement de la performance aérobie en modifiant les paramètres centraux et périphériques. Ces effets bénéfiques sont recherchés dans le cadre de la réhabilitation des maladies chroniques par la pratique de l'activité physique. Selon les caractéristiques de l'entraînement, les effets sont plus ou moins marqués et améliorent les paramètres centraux et/ou périphériques. Les adaptations induites par la programmation des charges d'entraînement au cours de la séance ne sont pas clairement établies. La mitochondrie, fournisseur d'énergie aérobie de la cellule musculaire, est une organelle fortement malléable. Les mécanismes à l'origine de la biogenèse mitochondriale sont déterminés mais sa modulation à travers différentes modalités d'entraînement et son influence sur la performance aérobie restent à déterminer. Selon les caractéristiques de l'entraînement en endurance, il est possible que la fonction mitochondriale soit modifiée pour permettre une oxydation des substrats particulièrement adaptée à l'effort.

OBJECTIFS SCIENTIFIQUES

Dans le cadre de la réhabilitation des maladies chroniques telles que l'insuffisance cardiaque, la transplantation cardiaque ou le broncho-pneumopathie chronique, le reconditionnement à l'effort constitue un atout majeur pour l'amélioration de la qualité de vie. Plusieurs modalités de réentraînement sont proposées au patient afin d'améliorer sa capacité d'endurance et lui permettre de diminuer son handicap. Ces programmes sont construits autour de trois paramètres (durée, intensité et fréquence) qui déterminent la charge d'entraînement. Les réponses adaptatives induites par l'entraînement sont directement dépendantes de ces programmes (Fitts *et al.*, 1974). Sont principalement utilisés en réhabilitation l'entraînement à charge constante, pendant lequel l'intensité mécanique reste identique tout au long de la séance, et l'entraînement à charge variable, au cours duquel l'intensité varie généralement de manière cyclique. Il est possible d'atteindre une même charge d'entraînement en variant la durée et l'intensité des séances d'entraînement. Dans ce cas, les réponses adaptatives liées à l'entraînement dépendent de l'importance des stimuli métaboliques et mécaniques (Fluck & Hoppeler, 2003; Fluck, 2004). Plusieurs auteurs ont comparé les effets induits par ces modalités d'entraînement et ont obtenu des résultats divergents (Gorostiaga *et al.*, 1991; Warburton *et al.*, 2004; Berger *et al.*, 2006), s'expliquant notamment par des dépenses énergétiques et des durées d'entraînement différentes. Aussi, l'influence propre de la modalité d'entraînement sur les adaptations cardio-circulatoires et ventilatoires, en réponse à l'entraînement en endurance, n'est pas clairement établie. Sa détermination permettrait d'améliorer la prescription du réentraînement dans le domaine de la réhabilitation des maladies chroniques.

En réponse à l'entraînement en endurance, il est décrit une amélioration des capacités oxydatives musculaires. Si l'entraînement permet d'augmenter le nombre de mitochondries, il modifie également la structure de celles-ci et permet un meilleur contrôle des flux d'énergie (Hoppeler *et al.*, 1985; Saks *et al.*, 2000; Hoppeler & Fluck, 2003). La contraction musculaire, par la modification du potentiel redox et du ratio ATP/ADP, est le signal stimulant l'activité et la biogenèse mitochondriale (Hood, 2001; Freyssenet, 2007). Des modifications de la densité capillaire sont également observées après une période d'entraînement en endurance (Charifi *et al.*, 2004). Cependant, comme la biogenèse mitochondriale, l'effet de la modalité d'entraînement sur la densité capillaire reste à déterminer.

Des adaptations centrales (F_c , VES et \dot{Q}) sont décrites en réponses à un entraînement en endurance (Zavorsky, 2000; McGuire *et al.*, 2001; Vella & Robergs, 2005b). Elles entraînent l'amélioration des performances aérobies définies par la $\dot{V}O_{2max}$, le

positionnement des seuils en valeurs absolues et relatives ainsi que la capacité d'endurance. La part des adaptations centrales et périphériques dans l'amélioration des performances aérobies n'est pas clairement identifiée et est au centre d'un débat toujours d'actualité (Saltin & Calbet, 2006; Wagner, 2006).

Les performances aérobies se déterminent à travers l'exécution de tests progressifs et/ou continus amenant le sujet à épuisement. Le test de temps de maintien, au cours duquel le sujet maintient son effort à une intensité pré-déterminée (entre pSV_2 et $p\dot{V}O_{2_{max}}$) le plus longtemps possible, caractérise la capacité d'endurance et permet d'étudier les cinétiques d'ajustement de $\dot{V}O_2$, de \dot{Q} et de $D_{av}O_2$. L'accélération des cinétiques d'ajustement après une période d'entraînement en endurance est démontrée, mais l'influence des adaptations centrales et périphériques, à la fois sur les performances aérobies et sur les cinétiques, n'est pas établie (Grassi *et al.*, 1996; Berger *et al.*, 2006).

L'entraînement en endurance permet de développer la capacité de production d'énergie aérobie (Hoppeler & Fluck, 2003). Les acides gras sont principalement sollicités lors d'exercices à faible intensité tandis que les carbohydrates sont utilisés majoritairement pour des intensités élevées (Brooks & Mercier, 1994). L'utilisation des substrats est modifiée par l'entraînement en endurance et augmente l'utilisation des lipides pour des intensités relatives identiques. Cependant, à très haute intensité (environ 100% de $\dot{V}O_{2_{max}}$), ce sont toujours les carbohydrates qui sont les substrats utilisés. Nous avons démontré chez l'animal, une capacité mitochondriale spécifique et variable à utiliser les substrats selon les muscles (Ponsot *et al.*, 2005). Aucune étude n'a été menée chez l'homme et l'évolution des capacités mitochondriales à oxyder les différents substrats, par la pratique d'un entraînement régulier en endurance, reste à déterminer.

L'optimisation de l'activité des différentes enzymes de la chaîne respiratoire de la mitochondrie permettrait d'améliorer le flux d'énergie (Gnaiger *et al.*, 1998). L'activité du complexe I de la chaîne de transport des électrons est un des facteurs majeurs limitant le flux énergétique au sein de la mitochondrie (Rossignol *et al.*, 2000). Or chez l'homme, aucune étude n'a été menée pour déterminer l'influence de l'entraînement sur la régulation des enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Afin de répondre à ces différentes questions posées par la pratique de l'entraînement en endurance, nous avons mis en place deux protocoles d'étude.

Le premier consiste à déterminer les effets de la modalité d'entraînement à travers la comparaison de deux entraînements, l'un à charge variable et l'autre à charge constante, caractérisés par une dépense énergétique et une durée d'entraînement identiques.

Les objectifs poursuivis par cette étude étaient :

1) de déterminer l'influence des deux modalités d'entraînements sur les paramètres centraux et périphériques afin de proposer des entraînements adaptés aux personnes atteintes de maladies chroniques,

2) d'évaluer l'influence des améliorations périphériques (i.e., extraction d'O₂) sur les ajustements cardio-circulatoires à l'exercice et l'amélioration des performances aérobies.

Les hypothèses étaient les suivantes :

1) l'entraînement à charge constante, associé à une faible intensité d'entraînement (environ 60% de PMA), améliore les performances aérobies par des adaptations périphériques qui développent la capacité d'extraction musculaire de l'O₂,

2) l'alternance de courtes périodes à haute intensité (1 minute à 90% de PMA) et de périodes plus longues à faible intensité (4 minutes à pSV₁), pendant l'entraînement à charge variable, va créer une acidose métabolique transitoire et destabiliser l'homéostasie cellulaire. Cela va entraîner des adaptations à la fois centrales et périphériques permettant une amélioration des performances aérobies plus importante que celles associées à l'entraînement à charge constante,

3) les modifications des capacités oxydatives musculaires, déterminées par l'étude de la respiration mitochondriale, vont déterminer l'amélioration des performances aérobies et l'évolution des ajustements cardio-circulatoires et ventilatoires.

Le second protocole vise à déterminer l'influence de l'entraînement régulier à haute intensité en endurance sur la fonction mitochondriale à travers la comparaison de sédentaires et de sportifs de bon niveau en endurance.

Les objectifs étaient :

- 1) de comparer les capacités mitochondriales à oxyder les substrats énergétiques (acides gras et carbohydrates),
- 2) d'évaluer les adaptations mitochondriales qualitatives par l'analyse des capacités de fonctionnement des complexes de la chaîne respiratoire.

Les hypothèses étaient les suivantes :

- 1) l'entraînement en endurance à haute intensité, sollicitant majoritairement l'utilisation des carbohydrates comme substrat énergétique, va développer les capacités mitochondriales à utiliser ce substrat,
- 2) l'augmentation des capacités oxydatives musculaires avec l'entraînement va s'accompagner de modifications qualitatives modulant l'activité des différents complexes de la chaîne respiratoire de manière à optimiser le flux d'énergie.

MATERIELS ET METHODES

Cette partie présente les deux protocoles expérimentaux constituant ce travail. Elle décrit également la méthodologie utilisée et les techniques mises en œuvre dans l'analyse des effets systémiques et musculaires de l'entraînement en endurance. Le descriptif de la deuxième étude détaille uniquement les méthodes et techniques spécifiques à celle-ci.

I. 1^{ère} étude : Modifications des phénotypes contractiles et métaboliques induites par deux modes d'entraînement, chez le sujet sain

I.1. La population

Quinze sujets sains sédentaires volontaires, sept femmes et huit hommes, ont participé à cette étude qui a reçu l'avis favorable du C.C.P.P.R.B. d'Alsace (2002 - n°2866) et a été financée par un Protocole Hospitalier de Recherche Clinique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg. L'âge des sujets est compris entre 35 et 60 ans.

I.2. Schéma général du protocole

L'étude comprend deux périodes d'entraînement de huit semaines séparées par une période de déconditionnement. Avant et après les périodes d'entraînement, les sujets effectuaient une période d'évaluation composée d'un test progressif exhaustif, d'un test de temps de maintien et d'une biopsie musculaire. L'étude se décompose en quatre phases (figure 11):

1) Une phase initiale d'inclusion et d'évaluation permet de vérifier les critères de sédentarité et d'inclusion. Le premier test incrémental permet de déterminer les charges des deux modalités d'entraînement puis un tirage au sort définit la modalité d'entraînement associée à chaque période d'entraînement.

2) La seconde phase comprend un test de temps de maintien et une biopsie qui complètent la première période d'évaluation. Celle-ci est suivie de huit semaines d'entraînement et se termine par une période d'évaluation permettant de déterminer les gains et les adaptations liés à l'entraînement.

3) Une troisième phase de douze semaines de déconditionnement sépare les deux périodes d'entraînement et doit permettre au sujet de retrouver un état basal similaire à celui de son entrée dans l'étude. Le retour à l'état basal est évalué, à la fin de la phase, par un test incrémental.

4) La dernière phase débute par la fin de la période d'évaluation et précède la seconde période d'entraînement au cours de laquelle les sujets effectuent l'autre modalité d'entraînement. L'étude se clôture à l'issue de la quatrième période d'évaluation qui détermine les gains et les adaptations liés à l'entraînement.

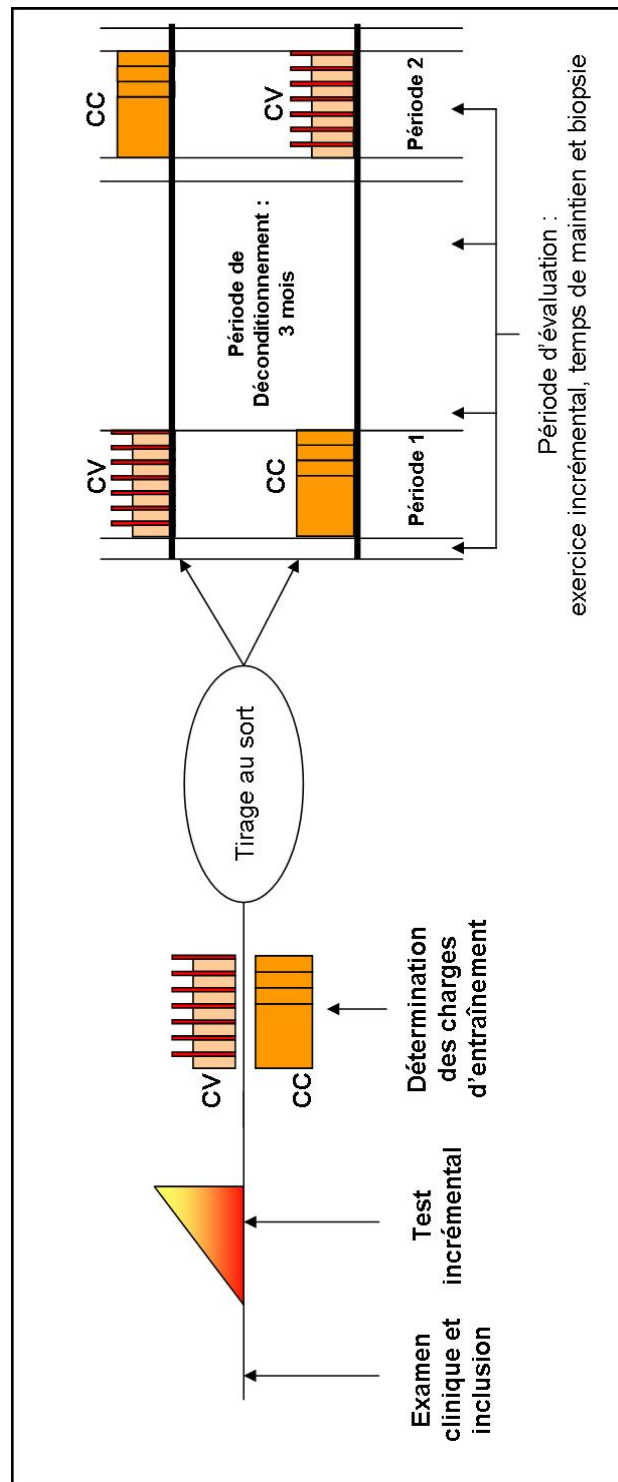


Figure 11 : Protocole expérimental. CC : entraînement à charge constante, CV : entraînement à charge variable.

I.3. Inclusion dans l'étude

Pour être inclus dans cette étude, les sujets doivent remplir plusieurs critères :

- Age compris entre 35 et 60 ans.
- Indice d'activité physique inférieur à 7,5 évalué selon le questionnaire de Beacke (Baecke JAH *et al.*, 1982).
- Etre domicilié à Strasbourg ou en périphérie (C.U.S.).
- Ne pas présenter de contre indication médicale.

Des examens cliniques préliminaires, réalisés par un médecin du service, ont pour objectif de vérifier si le sujet remplit les critères médicaux d'inclusion dans l'étude. Ils sont effectués deux fois : à l'entrée dans l'étude et avant le début de la deuxième phase d'entraînement. Ils sont constitués de plusieurs actes :

L'interrogatoire et l'examen médical de repos

Ils permettent la recherche des antécédents médicaux susceptibles de contre-indiquer l'inclusion et l'évaluation de la condition physique initiale (questionnaire de Beacke).

L'Examen cardio-vasculaire de repos

Il consiste en une échographie cardiaque (HDI 1500, ATL) ainsi qu'un électrocardiogramme de repos. Une mesure des diamètres cavitaires et des épaisseurs pariétales, une appréciation des fonctions systolique et diastolique ventriculaires gauches, par étude des flux doppler, sont déterminées lors de l'échographie.

Des examens respiratoires au repos et les mesures anthropométriques complètent le bilan d'inclusion et sont effectués par nos techniciennes de laboratoire :

Examen respiratoire de repos

Un examen de spirométrie permet de déterminer la capacité vitale (CV), le débit maximal par minute (VMM) et le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS).

Mesures anthropométriques

Le poids et la taille sont relevés lors des examens cliniques et lors des phases d'évaluation qui suivent les périodes d'entraînement. Sont alors calculés : l'indice de masse corporelle ($IMC = \frac{\text{Poids(kg)}}{\text{Taille}^2(\text{m})}$), la surface corporelle (SC) à partir de la formule de Haycock ($SC = \text{poids}^{0,5378}(\text{kg}) \times \text{taille}^{0,3964}(\text{cm}) \times 0,024265$ (Haycock *et al.*, 1978)), le

pourcentage de masse grasse à partir de la mesure de quatre plis cutanés en suivant les abaques de Durnin (Durnin & Womersley, 1974).

I.4 Exercice et entraînement

I.4.1. L'ergocycle

Les tests d'effort sont effectués sur un ergocycle à frein électromagnétique (Medifit 1000S, Belgique). Les réglages de l'ergocycle sont enregistrés lors du premier test puis utilisés lors des tests suivants.

I.4.2. Le test incrémental

Les sujets ont réalisé une épreuve d'effort incrémentale jusqu'à épuisement sur ergocycle avant et après chaque période d'entraînement. Ce test permet de déterminer :

- La $\dot{V}O_{2\max}$ qui est la plus haute valeur de $\dot{V}O_2$ moyennée sur 30 secondes et la puissance mécanique associée.
- Les seuils ventilatoires SV_1 et SV_2 et les puissances mécaniques associées.
- Les paramètres cardiaques (F_c , VES et \dot{Q}) aux seuils ventilatoires et à l'effort maximal.
- La concentration en lactates au repos, toutes les deux minutes pendant l'effort, à l'effort maximal et pendant la phase de récupération jusqu'à la 60^{ème} minute.
- Les charges d'entraînement des deux modalités, déterminées à l'issue du test d'inclusion.

Au cours du test, la fréquence de pédalage est maintenue constante et se situe entre 60 et 70 révolutions par minute. La puissance maximale théorique (PMT) est calculée à partir de l'équation de Hansen *et al.* (Hansen *et al.*, 1984) : pour les femmes

$$PMT = \frac{[(42,8 + \text{Poids}) \times (22,8 - 0,17 \times \text{Age})] - 300}{10,3}$$
 avec le poids en kg et l'âge en année, pour

les hommes
$$PMT = \frac{[\text{Poids} \times (50,72 - (0,372 \times \text{Age}))] - 300}{10,3}$$
 avec le poids en kg et l'âge en

année. Elle permet de déterminer individuellement la charge incrémentale de manière à ce que

le sujet atteint l'épuisement entre 12 et 15 minutes. L'atteinte de deux des quatre critères définis par Howley *et al.* (Howley *et al.*, 1995) atteste de la production d'un effort maximal : une Fc supérieure à 90% de la Fc_{max} théorique, un QR supérieur à 1,1, une concentration en lactates supérieure à 8 mmol·L⁻¹, l'atteinte d'un plateau de $\dot{V}O_2$. Tous les sujets sont vigoureusement encouragés à produire un effort maximal.

I.4.3. Le test de temps de maintien

Ce test est effectué avant et après chaque période d'entraînement. Il permet de déterminer :

- le temps limite (Tlim) : correspondant au temps d'épuisement du sujet entre le départ du test et l'épuisement. Il caractérise la capacité d'endurance des sujets.
- les cinétiques de $\dot{V}O_2$, de \dot{Q} et de $D_{a-\bar{v}}O_2$ qui caractérisent les ajustements cardio-circulatoires et ventilatoires à l'exercice.

L'effort exhaustif est précédé d'un échauffement à 40% de la puissance maximale tolérée (PMT) suivi d'une période de récupération passive visant à retrouver les valeurs basales de $\dot{V}O_2$. Ensuite, en moins de 30 secondes, les sujets sont amenés à $P_{\Delta 50}$ ($= pSV_2 + \frac{(PMT - PSV_2)}{2}$) qu'ils doivent maintenir jusqu'à épuisement. La puissance de pédalage utilisée n'a pas été modifiée après entraînement, le test réalisé après entraînement est donc effectué à la même puissance absolue et non relative.

I.4.4. Le protocole d'entraînement

Deux types d'entraînement sont utilisés dans cette étude : l'entraînement à charge constante propose une intensité d'entraînement identique tout au long de la séance tandis que l'entraînement à charge variable présente une alternance de périodes à faible et haute intensité. Le principe de l'étude propose une dépense énergétique et une durée des séances d'entraînement identiques entre les deux modalités (figure 12). L'entraînement à charge variable est composé de la répétition de plusieurs blocs de 5 minutes, composés de 4 minutes à pSV_1 , période nommée base, et 1 minute à 90% de la PMT que l'on nommera pic dans la suite du manuscrit. L'intensité de l'entraînement à charge constante est calculée à partir des valeurs de l'entraînement à charge variable de manière à obtenir une dépense énergétique

identique : $P = \frac{(4 \times pSV_1) + 90\%PMT}{5}$. Les sujets s'entraînent à raison de trois séances par semaine pendant huit semaines. La charge d'entraînement est progressivement augmentée par l'ajout de blocs de 5 minutes toutes les 6 séances (figure 12).

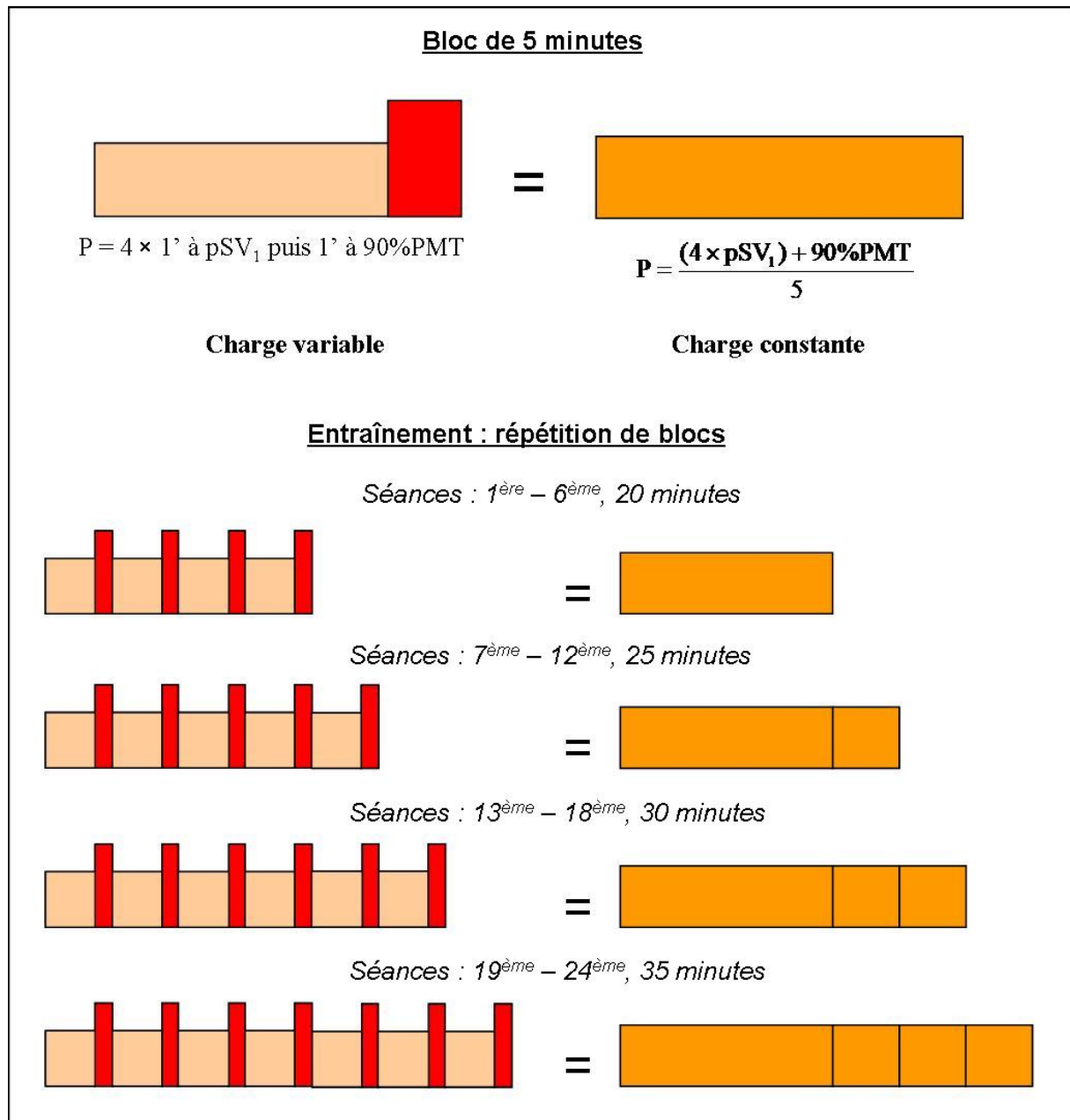


Figure 12 : construction des entraînements et évolution de la charge d'entraînement.

Après la première période de réentraînement, les sujets observent une période de déconditionnement d'une durée de 12 semaines. Au cours de cette période, les sujets reprennent une activité identique à celle précédant l'entrée dans le protocole. A l'issue de cette période, les sujets retrouvent leur état basal qui est vérifié par la pratique d'un test

incrémental progressif. Les critères vérifiés étaient la PMT et les puissances associées aux seuils ventilatoires. Seul un sujet n'était pas revenu à son état initial à l'issue de la période de déconditionnement mais une phase supplémentaire de 4 semaines a permis le retour à cet état initial.

I.5. Paramètres déterminés durant les tests

I.5.1. La 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 pneumotacographe (mesure des débits ventilatoires) est calibré avec une seringue de volume connu (3L). De même, les analyseurs de gaz (mesure de la FiO₂, FiCO₂, FeO₂ 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.

I.5.2. La mesure du débit cardiaque

Le \dot{Q} est mesuré par impédancemétrie (Physioflow, Manatec, France). Cette technique utilise les variations de l'impédance transthoracique durant l'éjection systolique pour déterminer le VES. Couplée à la mesure de la fréquence cardiaque via deux électrodes (V1/V6) mesurant la durée de l'intervalle R-R, cette technique offre la possibilité de déterminer le \dot{Q} : $\dot{Q} = Fc \times VESi \times \text{surface corporelle}$

où \dot{Q} est exprimé en L·min⁻¹, Fc en bpm, VESi est le VES exprimé par unité de surface corporelle (ml.m⁻²) et la surface corporelle (m²) 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).

I.5.3. La différence artérioveineuse en O₂

La $D_{a-\bar{v}}O_2$ est calculée à partir de la relation entre le \dot{Q} et de la $\dot{V}O_2$ issue de l'équation de Fick. La mesure de ces deux paramètres, de manière indépendante, permet le calcul de la $D_{a-\bar{v}}O_2$. Pour cela, les signaux de \dot{Q} et de $\dot{V}O_2$ sont moyennés toutes les cinq secondes et synchronisés.

I.5.4. La fréquence cardiaque

Durant les tests, la Fc et un électrocardiogramme sont suivis en continu (cardiovit CS-200, Schiller AG, Baar, Suisse). Pendant les entraînements, la Fc est mesurée à l'aide d'un cardiofréquencemètre par télémétrie (Vantage NV, Polar, Kempeley, Finlande).

I.5.5. La saturation en O₂

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

I.5.6. Détermination des cinétiques

Les analyses des vitesses d'ajustement de la $\dot{V}O_2$, du \dot{Q} et de la $D_{a-\bar{v}}O_2$ à l'exercice, qui permettent de caractériser les réponses cardio-circulatoires et ventilatoires, sont effectuées en utilisant des modèles mathématiques. Ceux-ci mettent en œuvre des techniques de régressions non linéaires à partir de modèles à mono ou double 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 plusieurs répétitions d'un même test, afin de moyennner les données obtenues et ainsi réduire le "bruit" contenu dans le signal. Cette méthode étant impossible à appliquer avec nos sujets qui réalisent des Tlim jusqu'à épuisement, nous avons employé la méthode du "bootstrap" pour obtenir une estimation de la précision des paramètres du modèle déterminé par les régressions multiples non linéaires. Le principe de cette méthode est de déterminer 1000 cinétiques différentes à partir des données initiales. Pour cela, le

logiciel fabrique, en tirant au sort les points dans le fichier original, 1000 fichiers contenant le même nombre de point que le fichier initial. Aussi, des points du fichier initial peuvent être tirés au sort une fois, plusieurs fois ou aucune fois. Un coefficient de variation est calculé pour tous les paramètres du modèle de manière individuelle et donne une idée de la précision de leur détermination (Borrani *et al.*, 2001; Borrani *et al.*, 2003).

I.5.7. Prélèvements réalisés

- Sanguin :

Deux mL de sang veineux sont prélevés au niveau du pli du coude au repos, toutes les deux minutes pendant l'effort et pendant la récupération (1', 3', 5', 8', 15', 20', 30', 40', 50', et 60'). Leur analyse permet de doser le lactate, les bicarbonates (HCO_3^-) et de déterminer le pH (Chiron-Diagnostics Serie 800, Bayer, Puteau, France).

- Musculaire :

La microbiopsie musculaire est toujours réalisée par un médecin du service avant et après chaque période d'entraînement. Un délai minimum de 48 h sans activité physique est respecté avant sa réalisation. La microbiopsie musculaire est obtenue par voie transcutanée après l'injection d'un anesthésique intradermique (0,2 ml de Xylocaïne) et incision de la peau sur 5 mm (Bergstrom, 1979). Chaque prélèvement permet d'obtenir entre 50 et 100 mg de muscle dont une partie est congelée dans l'azote liquide pour des études ultérieures (quantification d'enzymes, densité capillaire, ARN messagers) et l'autre partie est utilisée pour l'étude des paramètres de la respiration mitochondriale

I.6. La respiration mitochondriale

I.6.1. Mesure de la respiration mitochondriale

La mesure de la respiration mitochondriale est effectuée à l'aide de quatre électrodes de Clark utilisées simultanément dans quatre chambres de mesures fermées, thermostatées à 22°C et sous constante agitation. Ces électrodes sont reliées à un ordinateur qui contient un programme de traitement des données et trace les droites d'enregistrement de la consommation d'oxygène en fonction du temps.

L'acquisition du signal s'effectue par l'oxygraphe «Strathkelvin instruments 928 6-Channel system ». Une interface connecte les électrodes à un programme informatique qui est

livré avec le Strathkelvin. Il permet d'enregistrer la consommation d'oxygène, de calculer précisément les vitesses de respiration dans la chambre, puis de normaliser les valeurs en mg de fibres (en poids sec).

I.6.2. La technique de la respiration mitochondriale sur fibres perméabilisées

La technique des fibres musculaires perméabilisées à la saponine (Veksler *et al.*, 1987) permet d'étudier les propriétés fonctionnelles de l'ensemble de la population des mitochondries *in situ* (figure 13).

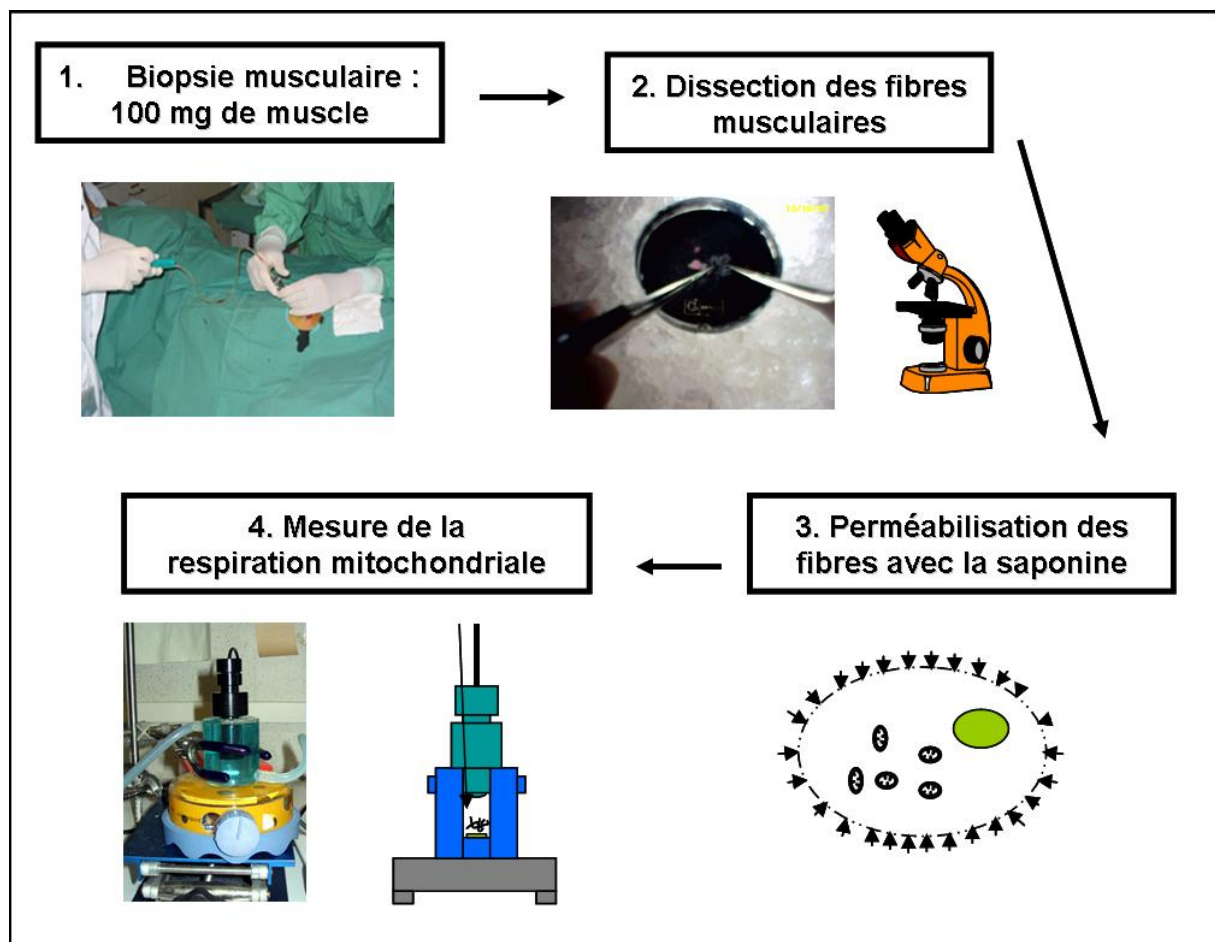


Figure 13 : Technique de la respiration mitochondriale sur fibres perméabilisées.

1) Un prélèvement musculaire est effectué dans le *vaste externe* à l'aide d'une aiguille de Bergström, 2) les fibres sont disséquées dans une solution de respiration à 4°C, 3) les fibres sont perméabilisées à l'aide d'un détergent dans un bain sous agitation pendant 30 minutes, 4) les fibres sont placées dans une chambre thermostatée à 22°C sous agitation et le fonctionnement des mitochondries est analysé après une acquisition informatique du signal.

Elle comporte trois étapes :

○ *La préparation des fibres musculaires*

Après avoir récupéré l'échantillon musculaire, celui-ci est immergé dans de la solution de respiration (solution S décrite au paragraphe I.6.4). Les fibres musculaires sont ensuite individualisées en petits groupes sous binoculaire (diamètre moyen 100-300 μm), au moyen de pinces de précision.

○ *La perméabilisation des fibres à la saponine*

Leur préparation terminée, les fibres sont alors disposées dans de la solution de pelage (solution S) contenant de la saponine (50 $\mu\text{g/ml}$). Une agitation de 30 minutes à 4°C constitue l'étape de perméabilisation. La saponine détruit sélectivement le sarcolemme sans attaquer les membranes mitochondriales moins riches en cholestérol.

Les fibres sont alors rincées (toujours à 4°C et sous agitation) dans un bain de solution S, sans saônine, pendant 10 minutes (ce qui élimine la saponine), puis dans un bain de solution R (décrite au paragraphe I.6.4) pendant 2×5 minutes, afin d'éliminer l'ADP libre. Les fibres sont alors prêtes pour la mesure de la respiration mitochondriale.

○ *La respiration des fibres*

Cette technique permet d'étudier les propriétés de l'ensemble de la population des mitochondries *in situ*. Les fibres (entre 5 et 10 mg en poids frais) sont mises dans une chambre de respiration thermostatée (+22°C) contenant 3 ml de solution de R, et leur consommation d'oxygène est enregistrée en continu au moyen d'une électrode de Clark reliée à un ordinateur.

I.6.3. Le principe de la polarographie

La polarographie est une technique permettant de visualiser la consommation d'oxygène dans une enceinte close. Elle utilise une électrode constituée d'un couple platine-argent, immergée dans une solution saturée de KCl (électrode de Clark). Une différence de potentiel est appliquée entre l'anode (électrode en argent) et la cathode (électrode en platine), ce qui entraîne leur ionisation et la création d'un courant. L'intensité de ce courant est liée à la conductance entre l'électrode de platine, le pont KCl et l'électrode en argent. Elle est directement proportionnelle à la concentration en O_2 du milieu. En effet, plus il y a d' O_2 dans le milieu et meilleure est la conductance (diminution de la résistance). Finalement, la variation d'intensité est transformée en une variation de voltage pour pouvoir donner un signal enregistrable. La solution contenant les fibres perméabilisées à la saponine est séparée du couple platine-argent par une fine membrane en Téflon ne laissant passer que l' O_2 . En

absence de fibre, on enregistre la vitesse initiale de respiration (V_i) qui représente l'oxygène consommé par les électrodes. Après avoir ajouté les fibres, on enregistre V_0 , la vitesse de respiration des fibres sans ADP exogène. On remarque que V_i est très inférieure à V_0 mais non négligeable. Par conséquent, elle est retranchée de l'ensemble des vitesses de respiration. Les chaînes respiratoires des mitochondries vont être activées et l' O_2 présent dans le tampon commencera à être consommé, ce qui entraînera une diminution de l'intensité du courant. La diminution de la quantité d' O_2 du milieu se traduira à l'écran par une courbe décroissante.

I.6.4. Les solutions de respiration

Deux solutions sont utilisées au cours de l'expérimentation. Les solutions S (solution de pelage) et R (solution de respiration) reconstituent le contenu en ions intracellulaires. Elles contiennent : CaK_2EGTA 2,77 mM, K_2EGTA 7,23 mM (concentration de Ca^{2+} libre : 100 nM), $MgCl_2$ 6,56 mM, imidazole 20 mM, taurine 20 mM, dithiothreitol 0,5 mM. La force ionique est ajustée à 160 mM par l'addition de méthanesulfonate de potassium. Les solutions ont un pH à 7,1. La Solution S contient également 5 mM de MgATP et 15 mM de phosphocréatine. La solution R contient des substrats permettant l'alimentation en électrons de la chaîne respiratoire de la mitochondrie : 5 mM de glutamate, 2 mM de malate, 3 mM de phosphate et 2 mg/ml d'albumine.

Si la solution R contient les substrats nécessaires à la respiration, elle ne comporte ni ADP, ni PCr. Cela permet, lors de la mesure de la respiration mitochondriale, d'enregistrer la consommation d'oxygène basale V_0 (non stimulée par l'ADP).

I.6.5. Les protocoles de mesure : détermination des capacités maximales

Après enregistrement de la ligne de base de respiration (V_i), les fibres sont introduites dans la chambre de respiration thermostatée (22°C), et leur consommation d'oxygène est mesurée (V_0). Après six minutes d'enregistrement, des ajouts successifs d'ADP sont effectués jusqu'à atteindre la vitesse de respiration maximale des fibres (V_{max} , figure 14). L'ACR (accepteur control ratio) est calculé en faisant le rapport entre la V_{max} et la V_0 . Il est un bon indicateur de l'état fonctionnel des mitochondries, définit la stimulation de la respiration par l'accepteur (ADP) et permet d'évaluer le couplage entre les oxydations et les phosphorylations (N'Guessan *et al.*, 2004).

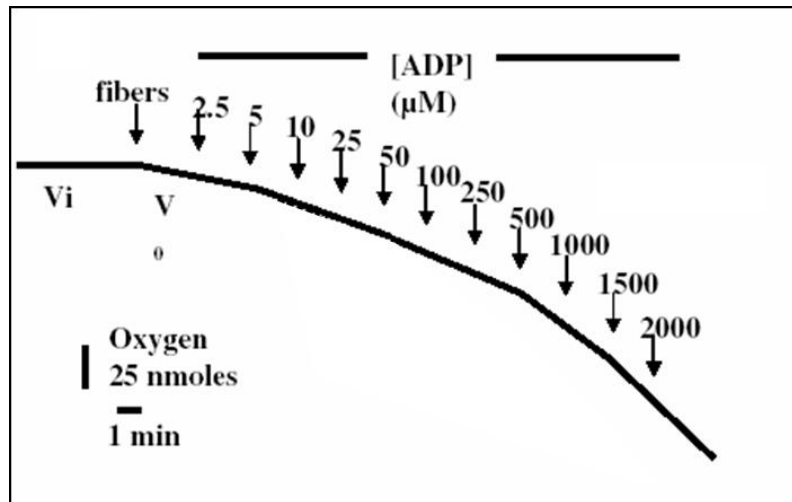


Figure 14 : protocole de détermination de la consommation maximale d'O₂ des fibres musculaires.

I.7. Mesure de la capillarisation

Les fragments de muscle congelés sont coupés transversalement en fines sections de 10 μm à l'aide d'un microtome à -20°C (Laica CM3050, U.S.A.), ils sont ensuite disposés sur des lames. L'identification des capillaires est effectuée à l'aide d'un anticorps (CD31, monoclonal mouse anti-human, GeneTex, Inc, U.S.A.) qui reconnaît la PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule) qui est une glycoprotéine transmembranaire fortement exprimée dans les cellules endothéliales. Les lames sont incubées dans des solutions successives : 1h dans l'anticorps CD 31 et 1h dans un second anticorps biotinylé (biotinylated anti-mouse IgG (H+L, Vector, U.S.A.). Toutes les incubations sont faites à température ambiante et, entre chaque bain, les lames sont rincées dans une solution de PBS. L'immunoréactivité est détectée en utilisant un kit de substrat de DAB (peroxidase substrate kit DAB, Vector, U.S.A.). Une lame contrôle est effectuée lors de chaque expérimentation en utilisant la même procédure sans le premier anticorps.

Les lames sont placées sous microscope (Labophot2, Nikon, Japan) afin d'en prendre une image digitale (digital DS-5M, Nikon, Japan). Sur ces images digitales, le nombre de capillaires et de fibres est compté sur des espaces définis permettant de déterminer le ratio capillaire par fibre pour chaque sujet.

II. 2^{ème} étude : Etude de la plasticité mitochondriale à travers la comparaison de sujets sédentaires et d'athlètes.

II.1. La population

Quatorze sujets masculins volontaires ont participé à cette étude : sept sujets étaient sédentaires et sept autres sportifs. Cette population est issue de deux études ayant reçu l'avis favorable du C.C.P.P.R.B. d'Alsace, l'une a été financée par un Protocole Hospitalier de Recherche Clinique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et la seconde a été financée par le Comité International Olympique.

Les critères d'inclusion pour les sédentaires sont identiques à ceux de l'étude précédente. Les critères d'inclusion des sportifs étaient :

- meilleur temps sur 10 000m inférieur à 35 minutes (ou performance équivalente sur d'autres distances) ;
- entraînement habituel comprenant au moins 5 séances/semaine dont 2 séances consacrées au développement de SV₂ ;
- pas de pathologie ou de traitement médical susceptible de contrarier le bon déroulement de l'entraînement et d'interférer avec les évaluations.

II.2. Le protocole

Les sujets ont effectué un test incrémental afin de d'évaluer leur performance aérobie. 48 heures après ce test, un prélèvement musculaire a été obtenu par microbiopsie afin d'effectuer une mesure de la respiration mitochondriale.

Le matériel et les techniques de mesures utilisés pour cette étude sont identiques à ceux de la première étude. Seule la mesure de la respiration mitochondriale est différente puisque deux protocoles de mesure supplémentaires ont été effectués.

II.3. Mesure de la respiration mitochondriale

II.3.1. Détermination des capacités maximales

Pour déterminer les capacités maximales des mitochondries, on utilise la même technique de mesure que pour l'étude précédente.

II.3.2. Etude des complexes de la chaîne respiratoire

Ce protocole permet d'évaluer les capacités oxydatives musculaires des différents complexes de la chaîne respiratoire (figure 15). Lors de la mesure des capacités maximales après l'ajout de 2mM d'ADP, le flux d'électron passe par les complexes I, III et IV. L'injection d'amital (2mM) permet d'inhiber la respiration en bloquant le fonctionnement du complexe I. Puis l'ajout de succinate (25 mM) permet de faire fonctionner la chaîne respiratoire à partir du complexe II. Le flux des électrons passe alors par les complexes II, III et IV. L'ajout de N,N,N',N'-tetraméthyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (TMPD, 0,5mM) et d'ascorbate (0,5 mM) permet de donner des électrons au cytochrome c. Dans cette condition, le cytochrome c oxydase (complexe IV) est étudié de manière isolée.

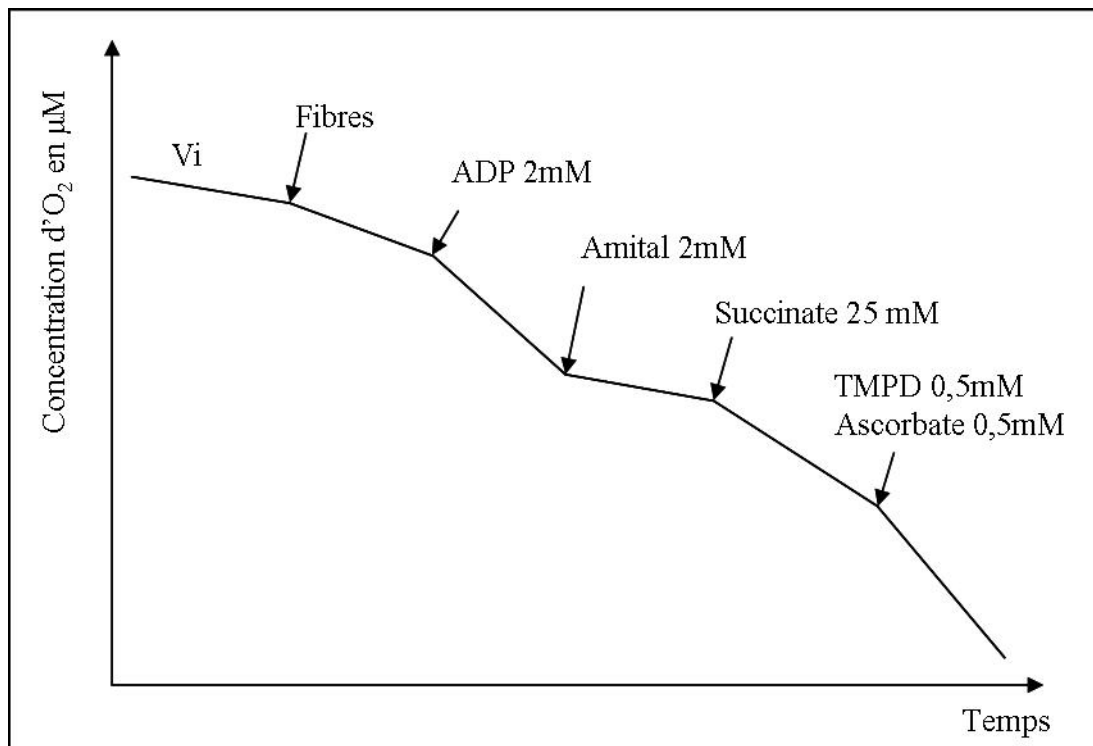


Figure 15 : étude de la respiration mitochondriale complexe par complexe.

II.3.3. Utilisation des substrats

Deux protocoles permettent de mesurer les capacités d'utilisation des substrats :

- Protocole « carbohydate »

Après avoir enregistré la V_i , les fibres sont placées dans la chambre à oxygraphie et la V_0 est enregistrée pendant 6'. 2mM d'ADP sont injectées dans la chambre pour permettre le fonctionnement de la chaîne respiratoire. Puis 2 mM de malate sont injectées afin d'initier le cycle de Krebs. Enfin, l'ajout de 1 mM de pyruvate permet de déterminer la capacité d'oxydation des carbohydates.

- Protocole « acide gras »

Après avoir enregistré la V_i , les fibres sont placées dans la chambre à oxygraphie et la V_0 est enregistrée pendant 6'. 2mM d'ADP sont injectées dans la chambre pour permettre le fonctionnement de la chaîne respiratoire. Puis 2 mM de malate sont injectées afin d'initier le cycle de Krebs. Enfin, l'ajout de 135 μ M de palmitoyl-carnitine permet de déterminer la capacité d'oxydation des acides gras.

Au cours de ce travail, tous les actes médicaux (interrogatoire, interprétation des tracés ECG, pose de voie veineuse, biopsie) ont été effectués par des médecins du service. J'ai, pour ma part, assuré le suivi des séances d'entraînement, le recueil des données issues des tests, la modélisation des cinétiques, les mesures de la respiration mitochondriale et les mesures de la capillarisation.

RESULTATS

I. 1^{ère} ETUDE : COMPARAISON DE DEUX MODALITES D'ENTRAINEMENT CHEZ LE SUJET SEDENTAIRE

I.1. Effets sur la performance aérobie

I.1.1. Présentation

Dans cette première étude, nos objectifs étaient de comparer l'effet de deux modalités d'entraînements isoénergétiques chez des personnes sédentaires et de déterminer la part centrale (\dot{Q}) et périphérique ($D_{a-\bar{v}}O_2$) dans l'amélioration de la $\dot{V}O_{2\max}$.

I.1.2. Résultats

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

Improvement of $VO_{2\max}$ by cardiac output and oxygen extraction adaptation during intermittent versus continuous endurance training. Accepté à l'European Journal of Applied Physiology.

**Improvement of VO₂max by cardiac output and oxygen extraction adaptation
during intermittent versus continuous endurance training**

Frédéric N. Daussin, Elodie Ponsot, Stéphane P. Dufour, Evelyne Lonsdorfer-Wolf, Stéphane Dautreleau, Bernard Geny, François Piquard, Ruddy Richard

European Journal of Applied Physiology, 2007, Vol. 101, N° 3, Pages 377-383

Pages 101-107 :

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

Les utilisateurs de l'ULP peuvent consulter cette publication sur le site de l'éditeur :

<http://dx.doi.org/10.1007/s00421-007-0499-3>

La version imprimée de cette thèse peut être consultée à la bibliothèque ou dans un autre établissement via une demande de prêt entre bibliothèques (PEB) auprès de nos services :

<http://www-sicd.u-strasbg.fr/services/peb/>

Principaux résultats :

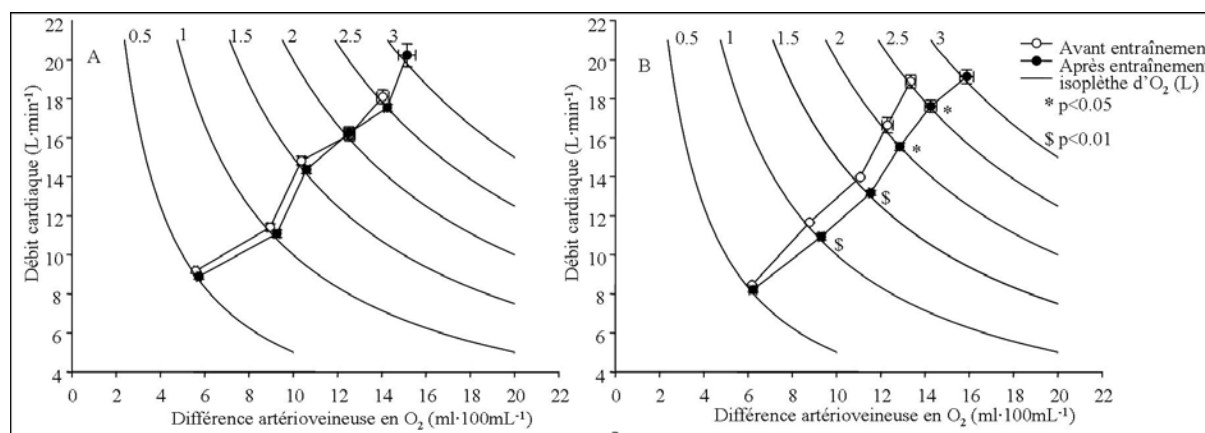


Figure 16 : évolution de la relation entre le débit cardiaque et la différence artérioveineuse. A : entraînement à charge variable, B : entraînement à charge constante.

Cette étude démontre une influence de la modalité d'entraînement sur les adaptations centrales et périphériques après une période de huit semaines d'entraînement en endurance. L'entraînement à charge variable améliore la $\dot{V}O_{2max}$ par des adaptations centrales et périphériques tandis que l'entraînement à charge constante n'induit qu'une amélioration périphérique.

Cette étude met en évidence une modification de la relation entre le \dot{Q} et la $D_{a-\bar{v}}O_2$, lors de l'exercice, uniquement avec l'entraînement à charge constante. Ces adaptations traduisent une meilleure extraction musculaire de l'O₂, quelle que soit l'intensité de l'exercice. Ces données suggèrent que l'amélioration de la $D_{a-\bar{v}}O_2$ au pic d'exercice résulte de mécanismes différents.

I.2. Effets sur la fonction mitochondriale et sa relation avec la performance aérobie.

I.2.1. Présentation

La comparaison de deux modalités d'entraînement produisant la même dépense énergétique nous permet de tester les hypothèses suivantes : 1) le niveau de perturbation intracellulaire lié à la modalité d'entraînement influence la biogenèse mitochondriale et la densité capillaire, indépendamment de la charge globale de l'entraînement, 2) l'amélioration de la fonction mitochondriale modifie la vitesse des cinétiques de $D_{a-\bar{v}}O_2$, \dot{Q} et $\dot{V}O_2$ et permet l'amélioration de la $\dot{V}O_{2\max}$ et de la capacité d'endurance.

I.2.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article soumis pour publication :

Role of metabolic stress in the adaptations of mitochondrial function in sedentary: relation to the aerobic performance improvements. Soumis au Journal of Physiology.

Role of metabolic stress in the adaptations of mitochondrial function in sedentary: relation to the aerobic performance improvements

Frédéric N. Daussin¹, Joffrey Zoll¹, Stéphane P. Dufour¹, Elodie Ponsot¹, Evelyne Lonsdorfer-Wolf¹, Stéphane Doutreleau¹, Bertrand Mettauer², François Piquard¹, Bernard Geny¹, Ruddy Richard¹

¹ CHRU of Strasbourg, Physiology and Functional Explorations Department, Civil Hospital, F67091 Strasbourg, France and University Louis Pasteur, Faculty of Medicine, Physiology Department, UPRES E.A. 3072, Strasbourg, France.

² Cardiology Departement, Civil Hospital, F68024 Colmar, France

Address for reprint request and other correspondence:

Frédéric N. Daussin,

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

Phone : 0033 (0)3 88 11 61 22

Fax : 0033 (0)3 88 11 64 67

E-mail : fredericdaussin@wanadoo.fr

Running title: mitochondria response to metabolic stress and performance improvement

Key words: mitochondria; endurance training; performance

Word counting: 4842

ABSTRACT

We explored the adaptations of muscular mitochondrial function, capillary density, cardiopulmonary parameters and exercise performance in sedentary subjects following a continuous training modality (CT) inducing low level of muscular metabolic stress *vs.* an intermittent training modality (IT) inducing high level of muscular metabolic stress. Both training are realised with the same global energy expenditure and training duration. Eleven subjects were randomly assigning to two periods of 24 trainings sessions over 8 weeks in a cross-over design, separated by 12 weeks of detraining. Maximal oxygen uptake (VO_{2max}) measured during maximal exercise testing increased after both training by 9% with CT *vs.* 15% with IT, whereas only IT was associated with improvements of maximal cardiac output (Q_{max} , from 18.1 ± 1.1 to 20.1 ± 1.2 L·min⁻¹, $p < 0.01$) and with faster VO_2 kinetics (68.0 ± 1.6 *vs.* 54.9 ± 0.7 sec, $p < 0.05$) measured during all-out test (T_{lim}). Skeletal muscle oxidative capacities (V_{max}) were only increased after IT (3.3 ± 0.4 before and 4.5 ± 0.6 $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{gdw}^{-1}$ after training, $p < 0.05$) whereas capillary density increased after both training, with a 2-fold higher enhancement after CT ($p < 0.05$). We found correlations between gain of V_{max} and, gain of T_{lim} and gain of VO_{2max} with IT. Amelioration of Q_{max} was also correlated with gain of VO_{2max} . These results firstly suggest that low metabolic stress is sufficient to induce capillary density improvement whereas mitochondrial function improvement needs a high metabolic stress, and secondly our data suggest that enhancement of muscular mitochondrial function and capillary density are the basic mechanisms allowing VO_{2max} and Q_{max} improvements.

[*Signalement bibliographique ajouté par :*

SICD Strasbourg - Département de la Documentation électronique

Service des thèses électroniques]

Journal compilation © 2008 The Physiological Society

Lien vers la page d'accueil du journal :

<http://jp.physoc.org/>

INTRODUCTION

Mitochondria are the main subcellular structures that determine the oxygen demand of muscle (Hoppeler & Fluck, 2002). It has been demonstrated that these organelles were markedly altered with several stimuli including exercise training (Holloszy & Coyle, 1984; Hoppeler & Fluck, 2002). Notably, it has been demonstrated that endurance training is associated with enhancement of muscle oxidative capacities, participating to the improvement of systemic aerobic function both at peak oxygen consumption ($\dot{V}O_{2\max}$) and during endurance capacity (Holloszy, 1967; Zoll *et al.*, 2003b). Moreover, we showed the importance of the qualitative properties of mitochondria when endurance capacities increase (Zoll *et al.*, 2002). Mitochondrial biogenesis in muscle cells begins with putative signals brought about by muscle contraction, and the magnitude of the signal is undoubtedly related to the increased muscle energy expenditure depending of the intensity and duration of the contractile effort (Hood, 2001). Then the level of metabolic disturbance, which could be defined as an intracellular metabolic stress, can also be implicated in the mechanisms of increased oxidative capacities independently of the increase of metabolic demand in exercise training. But despite advances in this area, the importance of these physiological mechanisms inducing adaptations of mitochondrial function remains elusive. Capillary density plays a central role in O_2 supply to mitochondria and it is established that skeletal muscle are able to adapt to endurance training by enhancing their capillary supply (Charifi *et al.*, 2004). The influence of muscular metabolic stress during exercise sessions on the adaptations of the capillary network remains unknown.

In order to increase muscle oxidative capacities as well as endurance capacities, continuous (CT) or interval training (IT) are both established exercise modalities used in rehabilitation (Samitz & Bachl, 1991; Puhan *et al.*, 2005). Interestingly, these two training modalities differ in term of metabolic stimulation: CT is associated with constant O_2 requirement during the session whereas IT alternates period with lower and higher metabolic rate. If these two types of training are realized with the same global energy expenditure and training duration, the principal difference between both training modalities will be the level of metabolic disturbance (i.e. intracellular metabolic stress), which will be higher in the IT.

(Hochachka & Burelle, 2004) defend the concept that $\dot{V}O_{2\max}$ is controlled by multi steps, and cardiac output (\dot{Q}) could also influence $\dot{V}O_{2\max}$ (Bassett & Howley, 2000; Zoll *et al.*,

2003a). Then, following CT and IT modalities, some central adaptations could also participate to the increase of the systemic aerobic function. Stratton et al. observed on sedentary subjects an increase of 21% of $\dot{V}O_{2\max}$ after 6 months of endurance training associated with enhancement of 16% of maximal cardiac output (\dot{Q}_{\max}) (Stratton *et al.*, 1994). Comparison of central adaptations following both CT and IT modalities, which essentially differ in terms of level of muscular metabolic stress during exercise sessions, are presently unavailable.

Aerobic functional capacity is determined by both peak and endurance capacity. It was established that endurance training accelerates oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) kinetics, which are important aerobic capacity characteristics, influenced by both central and peripheral adjustments. Both factors are modified in response to training but considering the connections between these two factors, it has been difficult to estimate the respective part of each on $\dot{V}O_{2\max}$ improvement and on the $\dot{V}O_2$ kinetics increase in speed. Moreover, influence of central and peripheral adaptations to endurance training on the improvements of $\dot{V}O_2$ kinetics and $\dot{V}O_{2\max}$ is largely debated (Saltin & Calbet, 2006; Wagner, 2006). It is established that oxygen arteriovenous difference ($D_{a-\bar{v}}O_2$) kinetics are faster than \dot{Q} kinetics (Richard *et al.*, 2004). Because oxygen utilization by mitochondrial function largely contributes to the $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics, this suggests that mitochondrial adaptations to training should affect $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics and then \dot{Q} response.

Therefore, the purpose of this study was to investigate, in healthy sedentary subjects, the effects of two different types of endurance exercise modalities yielding similar energy expenditure and differing in the level of intracellular metabolic stress, on skeletal muscle mitochondrial function, capillarity density and exercise performance. We hypothesized that: 1) intracellular metabolic stress, independently of the level of energy requirement, is an important contributor to the adaptations of muscular mitochondrial function and capillarity density, 2) the improvement in the muscular mitochondrial function (i.e. oxygen demand) after training lead to several adaptations of $D_{a-\bar{v}}O_2$, $\dot{V}O_2$ kinetics and \dot{Q}_{\max} and $\dot{V}O_{2\max}$.

METHODS

Subjects

Eleven sedentary subjects (seven men and four women) who were not taking medications that could alter cardiac, respiratory or muscular responsiveness participated in this study (Table 1). Sedentary is characterise by the level of physical activity which was evaluated by a questionnaire (Baecke JAH *et al.*, 1982). All subjects were informed about the potential risks associated to the experiments before giving their written consent to participate. The investigation was approved by the Consultant Committee on Human Protection from Biomedical Research of Strasbourg in accordance with the French Law and with the Declaration of Helsinki.

Study design

Subjects were ascribed to two experimental groups: CT or IT. After 3 months of deconditioning and using a randomised cross-over design, each subject was asked to engage in a second training period. The subjects of the CT group were therefore ascribed to the IT program and *vice-versa*.

In the week before and after each training period, all subjects performed three tests, which were separated by at least 24h of rest: 1) a cycling incremental test to exhaustion (IET), 2) an all-out test (Tlim), 3) a muscle biopsy to analyse mitochondrial respiration of permeabilised fibres and to quantify capillary density. During the first IET we determined for each subject: the powers associated to the two training programs and the physical capacity. Benefits of training was evaluated at the end of each training period. Finally in order to use subject as his own control, each subject performed 4 IET, 4 Tlim and 4 muscle biopsies.

The third incremental test was performed to ensure that the subject's exercise capacities had returned to the initial level, as evaluated by peak power (P_{\max}), $\dot{V}O_{2\max}$, ventilatory thresholds, mitochondrial respiration and capillary density and that the loads to be applied during the second training period did not differ from those determined initially. Moreover, the Baecke questionnaire was used to ensure that the subjects did not change their usual daily physical activity.

Each test was performed at the same time of the day, in the morning after a light breakfast on an upright electronically braked cycle ergometer (Medifit 1000S, Belgium). Pedalling frequency was 60-70 revolutions per minute and was kept constant during the test.

Training program:

Subjects performed 3 training sessions per week in the laboratory over an 8 weeks period (24 sessions). The duration of the initial training session was 20-min and to maintain sufficient training stimulation, training duration was increased by 5-min every two weeks, achieving 35-min during the last 2 weeks. IT consists of a series of block of 5-min comprising each 4-min at the power associated to the first ventilatory threshold (P_{LT}) followed by 1-min at 90% of P_{max} . The power output used during CT (P_{CT}) was computed from the equation below, allowing similar energy expenditure and duration compared to the IT sessions: $P_{CT} = (4 \times P_{LT} + 90\% \text{ of } P_{max}) / 5$.

Incremental exercise tests (IET):

We used the (Hansen *et al.*, 1984) formulas to determine the maximal power for sedentary subjects, allowing the power increments to be adjusted in order to that exhaustion occurred within 12 to 15 min. Each subject carried out a maximal effort according to Howley *et al.* (1995). Ventilatory thresholds were determined graphically (Beaver *et al.*, 1986); the first ventilatory threshold (i.e. lactate threshold; LT) was obtained from a regression analysis of the slope of the carbon dioxide elimination ($\dot{V}CO_2$) versus $\dot{V}O_2$ plot and the second ventilatory threshold (i.e. respiratory compensation point; RCP) was determined as the point where the increase of ventilation (\dot{V}_E) becomes faster than the increase in $\dot{V}CO_2$ (Wasserman *et al.*, 1994). Heart rate (HR), ventilation (\dot{V}_E), $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$ and \dot{Q} were monitored continuously during the test.

All-out test (T_{lim}):

T_{lim} was performed at pre-training power calculated as: $P_{\Delta 50} = \text{Power at RCP } (P_{RCP}) + (P_{max} - P_{RCP}) / 2$. The test began by 10-min warm-up at 40% of subject's P_{max} (lower than power at LT in all subjects). After a 5-min period of rest, the subjects were asked to cycle at $P_{\Delta 50}$ for as long as tolerable. HR, \dot{V}_E , $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$ and \dot{Q} were monitored continuously during the test.

Skeletal muscle biopsy

Vastus lateralis muscle was obtained by the percutaneous Bergström technique after local anesthesia as previously described (N'Guessan *et al.*, 2004). The muscle tissue retrieved was rinsed in ice cold saline, one part was immediately frozen in liquid nitrogen for subsequent analysis and the other part served for *in situ* respiration studies.

In-situ study of mitochondrial respiration

The mitochondrial respiration was studied *in-situ* in saponin skinned fibres (Veksler *et al.*, 1987). Briefly, fibres are separated under binocular microscope in solution S at 4°C (see below) and permeabilised in solution S with 50 µg/ml of saponin for 30 min. After being placed 10 min in solution R (see below) to wash out adenine nucleotides and creatine phosphate (PCr), skinned separated fibres were transferred in a 3 ml water-jacketed oxygraphic cell (Strathkelvin Instruments, Glasgow, Scotland) equipped with a Clark electrode as previously described (21). Solutions R and S contained: 2.77 mM CaK₂EGTA, 7.23 mM K₂EGTA (100 mM 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, 15 mM creatine-phosphate, while solution R contained 5 mM glutamate (G), 2 mM malate (M), 3 mM phosphate and 2 mg/ml fatty acid free bovine serum. After the experiments, fibres were harvested and dried and respiration rates were expressed as µmol O₂.min⁻¹.g dry weight⁻¹.

Immunohistochemical assays

Serial transverse sections, 10 µm thick, issues from *vastus lateralis* biopsies were cut with a microtome at -20°C (Leica CM3050, U.S.A.). The identification of capillaries was performed using monoclonal antibody CD 31 (monoclonal mouse anti-human, GeneTex, Inc, U.S.A.) which recognizes PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule) a transmembranous glycoprotein strongly expressed by vascular endothelium cells. The slides were incubated for 1h with CD31 antibody (mouse-antihuman), for 1h with the secondary antibody (biotinylated anti-mouse IgG (H+L), Vector, U.S.A.). All the incubations were performed at room temperature and the slides were rinsed between each incubation with a phosphate-buffered saline solution. Immunoreactivity was detected with the DAB substrate kit (peroxidase substrate kit DAB, Vector, U.S.A.). For each experiment a control reaction with the same protein concentration of normal serum as in the reaction with the first antibody was carried out.

Measurements

Ventilatory parameters:

During IET and Tlim, \dot{V}_E , $\dot{V}O_2$ and $\dot{V}CO_2$ were measured on a breath-by-breath basis by means of an open-circuit metabolic cart with rapid O₂ and CO₂ analyses (breath-by-breath metabolic measurement, Sensor Medics, MSE, Yorba Linda, USA).

Cardiovascular parameters:

HR was monitored continuously during IET and Tlim (cardiovit CS-200, Schiller AG, Baar, Switzerland). \dot{Q} is determined by a bioimpedance method (Physioflow, Manatec, France), as described in a previous study (Appendix I of Charloux and al., 2000)(Charloux *et al.*, 2000) and was monitored continuously during IET and Tlim. This method has been validated both during constant and maximal incremental exercise (Richard *et al.*, 2001; Richard *et al.*, 2004).

Maximal muscular oxidative capacities

The ADP-stimulated respiration above basal oxygen consumption (V_0) was measured by addition of 2mM of ADP. After the determination of the basal oxygen consumption (V_0), the maximal fibre respiration rates were measured at 22°C under continuous stirring in the presence of saturating amount of ADP as phosphate acceptor and glutamate-malate as mitochondrial substrates (V_{max}). The Acceptor Control Ratio (ACR) was V_{max}/V_0 , and represents the degree of coupling between oxidation and phosphorylation.

Capillary measurements

Muscle sections were viewed under a light microscope (Labophot2, Nikon, Japan) at a magnification of X10, and a digital image was taken of the section (digital DS-5M, Nikon, Japan). Capillaries were quantified from the digital image and the capillary-to-fibre ratio (C/F) was determined for each subject.

Data analysis***Signal treatments:***

Gas exchange and \dot{Q} data, initially obtained breath-by-breath and beat-to-beat respectively, were later reduced to 5-sec averages for all tests. For each parameter, the start of the test was stamped while recording. This measured point permitted to obtain a single synchronous database for both $\dot{V}O_2$ and \dot{Q} . We used the Fick equation to calculate the $D_{a-v}O_2$, dividing $\dot{V}O_2$ by \dot{Q} values averaged over the corresponding time interval.

Systolic and diastolic arterial blood pressures were measured at end of each stage during IET using an inflatable cuff. Mean arterial pressure (MAP) was calculated as $[(2 \times \text{diastolic blood pressure}) + \text{systolic blood pressure}]/3$. Blood pressure measure and \dot{Q} signal were synchronised to calculate systemic vascular conductance (SVC) established from the ratio between \dot{Q} and MAP.

Kinetics modelization

To describe the $\dot{V}O_2$, \dot{Q} and $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics increase during the all-out test, different mathematical models are used (Barstow & Mole, 1991):

$$Y(t) = Y_b + A_1 (1 - e^{-(t-td_1)/\tau_1})U_1 \quad \text{Fast component} \\ + A_2 (1 - e^{-(t-td_2)/\tau_2})U_2 \quad \text{Slow component}$$

Where $U_1 = 0$ for $t < td_1$ and $U_1 = 1$ for $t \geq td_1$, and $U_2 = 0$ for $t < td_2$ and $U_2 = 1$ for $t \geq td_2$.

Y_b is basal value, A_1 and A_2 are the asymptotic amplitude for the first and second component respectively; τ_1 and τ_2 are the time constants of each exponential; td_1 and td_2 represent the time delays of each equation. The primary component phase is not distorted by any early cardiodynamic influence (Whipp *et al.*, 1982; Borrani *et al.*, 2001). Because we focused on the fast and slow components, the cardiodynamic phase was excluded from analysis. As a consequence, the first 20-sec were removed from analysis to ensure that the early initial component did not influence the results.

The parameters of the model were determined with an iterative procedure by minimising the sum of the mean squares of the differences between the estimated values based on the model and the measurement. To exclude aberrant values, values greater than three standard deviations from the model were considered outliers and were removed. These outlier values were assumed to be due to abnormal response during exercise. These values represented <1% of the total data collected.

Statistics:

The bootstrap method (Efron B & RJ., 1993) was used to obtain an accuracy of the parameters describing the kinetics. This method, creating, 1 000 different samples of the same size than the original data set. A Fisher test was used to determine whether a mono- or bi-exponential model described kinetics better during the all-out test.

Data are presented as means \pm SEM. Statistical analyses were performed using Sigma Stat for Windows (version 3.0, SPSS Inc., Chicago, IL). After testing for data distribution normality and variance homogeneity, a two-way ANOVA with repeated measures was performed to test significance between and within training. Pearson correlation was determined with difference between pre and post-values (Δ). Student test was used to compare the $\dot{V}O_2$, \dot{Q} and $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics parameters during a same exercise. The significance level was set at $p < 0.05$.

RESULTS

Training intensity and basal status

During CT, the training intensity corresponds to 109 ± 3 W or 61% of P_{\max} inducing a total mechanical work equal to 4320 ± 115 kJ. With IT, subject alternate 4-min at low intensity (96 ± 2 W or 56% of P_{\max}) with 1-min at 90% of P_{\max} (156 ± 5 W) inducing similar mechanical work (4277 ± 112 kJ) as CT.

With random order, 7 subjects (4 men and 3 women) started the first training period with IT, while the others (2 men and 2 women) began with CT. Therefore no significant difference on all data appeared between the two pre-training period allowing us to compare training effect between and within modalities.

Effect on performance

Both training modalities enhanced peak aerobic capacity (Fig. 1A): $\dot{V}O_{2\max}$ improved by 9% with CT ($p < 0.05$) and by 15% with IT ($p < 0.01$) without difference between modalities. However $\dot{V}O_{2\max}$ improvements resulted from different adaptations. CT was mainly associated with improvement of $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$ (10.9 ± 0.9 vs. 12.6 ± 1.1 mL \cdot 100mL $^{-1}$, $p < 0.01$, Fig. 1C). Conversely, IT was associated with improvement of \dot{Q}_{\max} (18.1 ± 1.1 vs. 20.1 ± 1.2 L \cdot min $^{-1}$, $p < 0.01$, Fig. 1B) and $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$ (from 10.8 ± 0.8 to 11.9 ± 1.0 mL \cdot 100mL $^{-1}$, $p < 0.05$, Fig. 1C).

Cardiovascular response to exercise

SVC increased with CT at LT and peak exercise and improved only at peak exercise with IT (Table 2). A decrease of MAP at peak values was observed only with CT (113 ± 1 mm Hg before training vs. 103 ± 1 mm Hg after training, $p < 0.01$) and MAP was lower after CT than IT (103 ± 1 mm Hg vs. 110 ± 1 mm Hg respectively, $p < 0.05$).

Effect of training on on-kinetics

Tlim was ameliorated after both training modalities (348 ± 32 sec before training vs. 535 ± 52 sec after CT and 331 ± 35 sec before training vs. 720 ± 73 sec after IT, Fig. 1D). Interestingly, the improvement of Tlim was 2-time higher after IT than CT ($p < 0.05$).

Before IT and CT a bi-exponential model was required for two subjects to describe $\dot{V}O_2$ kinetics. Six subjects after CT and eleven subjects after IT needed a bi-exponential model to explore $\dot{V}O_2$ kinetics. \dot{Q} kinetics were always described by a bi-exponential model whereas $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics required a mono-exponential model. $\dot{V}O_2$ kinetics were unchanged after CT (Table 3) whereas IT had a significant impact on $\dot{V}O_2$ kinetics with faster adjustment demonstrated by a decrease of τ_1 (-19%, $p<0.05$, Table 4). \dot{Q} and $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics were not modified after both training modalities. $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics is always faster than \dot{Q} kinetics ($p<0.01$) and determined the rapid component of $\dot{V}O_2$ uptake.

Capillary density and muscular oxidative capacities

As seen on figure 2 for a typical subject, C/F was enlarged after both training: 1.7 ± 0.1 vs. 2.3 ± 0.1 capillary per fibre with CT ($p<0.01$) and 1.6 ± 0.1 vs. 1.9 ± 0.1 with IT ($p<0.05$). The magnitude of change in capillarisation was higher with CT compared to IT ($+40 \pm 3\%$ vs. $+21 \pm 2\%$ respectively, $p<0.01$).

To establish maximal oxidative capacities of mitochondria in muscles *in situ*, we studied the oxygen consumption rates of saponin-permeabilised fibres. V_0 remained unchanged after both training modalities. V_{max} was unchanged after CT (3.0 ± 0.5 before vs. $3.4 \pm 0.4 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g fiber dry weight}^{-1}$ after training) whereas V_{max} was increased after IT (3.3 ± 0.4 before vs. $4.5 \pm 0.6 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g fiber dry weight}^{-1}$ after training, Fig. 3A, $p<0.05$). IT had greater effect on V_{max} than CT ($+40 \pm 15\%$ vs. $+18 \pm 7\%$ respectively, $p<0.05$). Moreover, ACR improved only after IT ($+22\%$, $p<0.05$, Fig 2B).

Relation between peripheral adaptations and exercise performance after IT

As seen on figure 4A, the gain of \dot{V}_{max} ($\Delta\dot{V}_{max}$) was strongly correlated with $\Delta\dot{V}O_{2max}$ ($p<0.01$, $r^2=0.71$) and with ΔT_{lim} ($p<0.05$, $r^2=0.41$, Fig. 4B). Moreover, amelioration of central parameter, represented by $\Delta\dot{Q}_{max}$ was also strongly correlated to $\Delta\dot{V}O_{2max}$ ($p<0.05$, $r^2=0.50$, Fig. 4C).

DISCUSSION

Our study demonstrated that IT, which is associated with higher level of muscular metabolic stress during sessions, induced greater improvement of skeletal muscle mitochondrial function than CT, which is associated with lower level of muscular metabolic stress, even if both training yielded the same global energy expenditure and training duration. Whereas $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$ are improved after both training modalities, only IT induced a significant increase of \dot{Q}_{\max} . Concerning CT, there was a greater increase of capillary density compared to IT. $\dot{V}O_2$ kinetics were faster after IT while both \dot{Q} and $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics were not significantly modified. Interestingly, relations between $\Delta\dot{V}_{\max}$, $\Delta\dot{Q}_{\max}$, and $\Delta\dot{V}O_{2\max}$ were found after IT. Taken together, our results suggest that a low metabolic stress during CT induce higher increase of muscular capillary density than IT, whereas only high metabolic stress during IT, provoke improvements of muscular mitochondrial function which seems to be crucial to increase $\dot{V}O_2$ kinetics, $\dot{V}O_{2\max}$ and \dot{Q}_{\max} .

Exercise performance, DAV and capillary density adaptations

Our data demonstrate an improvement of $\dot{V}O_{2\max}$ with CT in accordance with the literature (Beere *et al.*, 1999; McGuire *et al.*, 2001) resulting mainly from peripheral adaptations as demonstrated by improvements of $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$ and capillary density, without modification of \dot{Q}_{\max} . These muscle adaptations induced an increase of SVC allowing an increased muscle perfusion. Capillary density is strongly implicated in muscle conductance as demonstrated on rat with a positive correlation between capillary density and muscle conductance (Howlett *et al.*, 2003). Moreover (Beere *et al.*, 1999) described that 3 months of CT is associated with a better redistribution of \dot{Q} to the exercising locomotors muscles which improves local O_2 availability. On the other hand IT yielded an improvement of $\dot{V}O_{2\max}$ by both central and peripheral adaptations in accordance with previous studies (Beere *et al.*, 1999; McGuire *et al.*, 2001). In contrast to CT, the mechanism of increase of SVC results mainly of an enhancement of \dot{Q}_{\max} . Our results suggest that in CT, most of the adaptations for improved $\dot{V}O_{2\max}$ occur peripherally in the skeletal muscle, whereas in IT, the increase of $\dot{V}O_{2\max}$ seems to result from both peripheral ($\Delta D_{a-\bar{v}}O_2$) as well as central adaptations ($\Delta\dot{Q}_{\max}$).

Tlim is used to test aerobic capacity and more precisely characterizes the endurance capacity of the subject (Di Prampero, 2003). We observed that both training had a significant impact on Tlim, but with a greater effect of IT. The improvement obtained with IT was associated with faster O₂ adjustments. It has been reported that faster $\dot{V}O_{2\max}$ kinetics result in smaller O₂ deficit and greater exercise capacity (Renoux *et al.*, 1999). Capillary density only improves with CT whereas capillary density, \dot{Q} and V_{max} are enhanced with IT. Indeed, we also observed an important lengthening of Tlim (+154%) with CT. Then, we hypothesize that capillary density improvement induce enhancement of Tlim with CT, whereas a greater enhancement of Tlim with IT results from capillary density, \dot{Q} and mitochondrial adaptations. It has been established that end of exercise during intense exercise is associated with metabolic disturbances inducing the end of the test (Green, 1997). Then, all these adaptations may be implicated in the reduction of intracellular disturbance during exhaustive exercise in order to improve Tlim.

Muscular oxidative capacities adaptations

In situ respiration of skinned fibres is the unique mean to assess the function of the whole mitochondrial population within its cellular environment, with saturating amounts of oxygen and substrates (Saks *et al.*, 1998). This allows a direct measure of muscular oxidative capacities. The initial status of our subjects is similar to previous studies (Zoll *et al.*, 2002; Zoll *et al.*, 2003a). V_{max} was not increased after CT suggesting that this training stimulus was not sufficient to induce mitochondrial adaptations. CT corresponds to a continuous metabolic stimulation with ATP utilisation rates corresponding to an intensity equal to 56% of P_{max}. These findings suggest that the number of sessions is not enough and/or that a threshold of metabolic stress threshold is necessary to activate the intracellular pathways responsible for the mitochondrial function adaptations. Conversely, IT is associated with improvement of V_{max}. These enhancements attest a higher muscle oxidative potential after training and are in line with our and others previous data using skinned fibre technique (Zoll *et al.*, 2002; Zoll *et al.*, 2003a) or isolated mitochondria technique (Tonkonogi *et al.*, 2000; Walsh *et al.*, 2001). Because both training submitted subjects to the same global energy expenditure and training duration, the increase of muscular oxidative capacities seen after IT suggest that the level of intracellular metabolic stress, which is higher in IT than CT is a major parameter in the adaptations of muscular mitochondrial function. Then, in conditions where global ATP consumption is similar, it seems that a fluctuation in ATP and in high energy phosphate flux

during the exercise session activates the signalling pathways inducing mitochondrial biogenesis. We can also suggest that the improvement of mitochondrial function could allow decreasing the metabolic perturbations induced by the higher variations in ATP demand during IT.

Study of Richardson *et al.* showed that intracellular PO₂ falls when exercise intensity is higher than 60% of P_{max} (Richardson *et al.*, 2001). In our study only IT yielded 90% of P_{max} suggesting that hypoxia stimulus could participate to the metabolic muscular adaptations. Accordingly, we demonstrated recently in athletes some qualitative adaptations of the mitochondrial function following a training protocol in hypoxia (Ponsot *et al.*, 2006), which also suggested the importance of a metabolic stress on mitochondrial adaptations. Another study showed that brief and intense exercise could be a time-efficient strategy to induce rapid adaptations in skeletal muscle oxidative capacities and exercise performance that are comparable to endurance training in young active men (Gibala *et al.*, 2006), and suggested the importance to destabilize the metabolic homeostasis. In a recent study, Perry *et al.* compared the effects of two training modalities: normoxic training vs. hyperoxic training and the power associated with hyperoxic training was greater to obtain similar heart rate stimulation (Perry *et al.*, 2007). They demonstrated a similar improvement of mitochondrial activity without difference between training modalities meaning that mechanic stimulation is not the major determinant of improvement of muscular oxidative capacities.

Importance of peripheral and central adaptations in improvement of performance

The question to resolve is to determine the importance of each peripheral and central adaptation in the enhancement of performance. $\Delta\dot{V}_{\max}$ was strongly correlated with $\Delta\dot{V}O_{2\max}$ and Tlim after IT. These data are consistent with previous studies (Saltin *et al.*, 1977; Rasmussen *et al.*, 2001), showing the importance of muscular metabolic adaptations in the improvements of exercise performance in the sedentary. During submaximal exercise, oxygen delivery to muscle is closely tied to mitochondrial oxygen demand which is driven by the cellular charge (i.e. ATP demand) provided by exercise (Bassett & Howley, 2000). Then, the strong correlation suggests that enhancement of endurance capacity is dependant on the increase of muscular mitochondrial capacities, allowing to increase oxidative production of ATP.

It is well known that \dot{Q} is a major factor of the $\dot{V}O_{2\max}$ limitation (Bassett & Howley, 2000; Saltin & Calbet, 2006). We observed that $\Delta\dot{Q}_{\max}$ was correlated with $\Delta\dot{V}O_{2\max}$ after IT. On

the other hand, we did not observe any \dot{Q} improvement after CT whereas $\dot{V}O_{2\max}$ was significantly increase, showing that \dot{Q} was not the primary mechanism allowing to increase $\dot{V}O_{2\max}$.

We found that $D_{a-\bar{v}}O_2$ kinetics is faster than \dot{Q} kinetics in agreement with some studies (Chuang *et al.*, 2002; Richard *et al.*, 2004), which found that tissue deoxygenation kinetics were faster than $\dot{V}O_2$ kinetics during constant high intensity exercise. These data suggest that the \dot{Q} response depends on muscular oxidative activity. Moreover, we previously suggested that the exercise-induced circulatory response is mainly under metabolic control (i.e. oxygen demand)(Dufour *et al.*, 2007). Thus, our present results suggest that the O_2 extraction level improves in response to the amelioration of maximal muscular oxygen consumption and thus, \dot{Q} adjustment has to increase in order to maintain sufficient O_2 supply, inducing an improvement of exercise performance.

In conclusion, we demonstrated that adaptations induced by endurance training yielding similar energy expenditure depend on training modality. CT determined by a constant metabolic stress seems to induce improvement of exercise performance only by the improvement of muscular capillary network. On the other hand, IT which is associated an increase of metabolic stress during training session induce a higher improvement of peak exercise and endurance performance with an improvement of muscular oxidative capacities, capillary network, faster $\dot{V}O_2$ kinetics as well as the increase of \dot{Q}_{\max} . The increase of cardiac output after IT seems to be closely dependant to the increase of the muscular oxidative capacities (i.e. oxygen demand). All together, our results suggest that a threshold of metabolic stress is necessary to improve muscular oxidative capacities, which seem to be the basic mechanism controlling $\dot{V}O_{2\max}$ and cardiopulmonary response (i.e. $\dot{V}O_2$ kinetics) to exercise.

References

- Baecke JAH, Burena J & JE F. (1982). A short questionnaire for measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* **36**, 936-942.
- Barstow TJ & Mole PA. (1991). Linear and nonlinear characteristics of oxygen uptake kinetics during heavy exercise. *J Appl Physiol* **71**, 2099-2106.
- Bassett DR, Jr. & Howley ET. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 70-84.
- Beaver WL, Wasserman K & Whipp BJ. (1986). A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* **60**, 2020-2027.
- Beere PA, Russell SD, Morey MC, Kitzman DW & Higginbotham MB. (1999). Aerobic exercise training can reverse age-related peripheral circulatory changes in healthy older men. *Circulation* **100**, 1085-1094.
- Borrani 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.
- 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.
- Chuang ML, Ting H, Otsuka T, Sun XG, Chiu FY, Hansen JE & Wasserman K. (2002). Muscle deoxygenation as related to work rate. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 1614-1623.
- Di Prampero PE. (2003). Factors limiting maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol* **90**, 420-429.
- Dufour SP, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Lampert E, Hirth C, Piquard F, Lonsdorfer J, Geny B, Mettauer B & Richard R. (2007). Deciphering the metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **292**, R1641-1648.
- Efron B & RJ. T. (1993). *An introduction to the bootstrap*. Chapman and Hall, New York.
- Gibala MJ, Little JP, van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, Raha S & Tarnopolsky MA. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J Physiol* **575**, 901-911.

- Green HJ. (1997). Mechanisms of muscle fatigue in intense exercise. *J Sports Sci* **15**, 247-256.
- Hansen JE, Sue DY & Wasserman K. (1984). Predicted values for clinical exercise testing. *Am Rev Respir Dis* **129**, S49-55.
- Hochachka PW & Burelle Y. (2004). Control of maximum metabolic rate in humans: dependence on performance phenotypes. *Mol Cell Biochem* **256-257**, 95-103.
- Holloszy JO. (1967). Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* **242**, 2278-2282.
- Holloszy JO & Coyle EF. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol* **56**, 831-838.
- 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.
- Howlett RA, Gonzalez NC, Wagner HE, Fu Z, Britton SL, Koch LG & Wagner PD. (2003). Selected contribution: skeletal muscle capillarity and enzyme activity in rats selectively bred for running endurance. *J Appl Physiol* **94**, 1682-1688.
- McGuire DK, Levine BD, Williamson JW, Snell PG, Blomqvist CG, Saltin B & Mitchell JH. (2001). A 30-year follow-up of the Dallas Bedrest and Training Study: II. Effect of age on cardiovascular adaptation to exercise training. *Circulation* **104**, 1358-1366.
- 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. *Molecular and Cellular Biochemistry* **256/257**, 267-280.
- Perry CG, Talanian JL, Heigenhauser GJ & Spriet LL. (2007). The effects of training in hyperoxia vs. normoxia on skeletal muscle enzyme activities and exercise performance. *J Appl Physiol* **102**, 1022-1027.
- Ponsot E, Dufour SP, Zoll J, Doutrelau S, N'Guessan B, Geny B, Hoppeler H, Lampert E, Mettauer B, Ventura-Clapier R & Richard R. (2006). Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. II. Improvement of mitochondrial properties in skeletal muscle. *J Appl Physiol* **100**, 1249-1257.
- Puhan MA, Schunemann HJ, Frey M, Scharplatz M & Bachmann LM. (2005). How should COPD patients exercise during respiratory rehabilitation? Comparison of exercise modalities and intensities to treat skeletal muscle dysfunction. *Thorax* **60**, 367-375.

- Rasmussen UF, Rasmussen HN, Krstrup P, Quistorff B, Saltin B & Bangsbo J. (2001). Aerobic metabolism of human quadriceps muscle: in vivo data parallel measurements on isolated mitochondria. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**, E301-307.
- Renoux JC, Petit B, Billat V & Koralsztejn JP. (1999). Oxygen deficit is related to the exercise time to exhaustion at maximal aerobic speed in middle distance runners. *Arch Physiol Biochem* **107**, 280-285.
- Richard R, Lonsdorfer-Wolf E, Charloux A, Doutreleau S, Buchheit M, Oswald-Mammosser M, Lampert E, Mettauer B, Geny B & Lonsdorfer J. (2001). Non-invasive cardiac output evaluation during a maximal progressive exercise test, using a new impedance cardiograph device. *Eur J Appl Physiol* **85**, 202-207.
- 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, Newcomer SC & Noyszewski EA. (2001). Skeletal muscle intracellular PO₂ assessed by myoglobin desaturation: response to graded exercise. *J Appl Physiol* **91**, 2679-2685.
- Saks VA, Veksler VI, Kuznetsov AV, Kay L, Sikk P, Tiivel T, Tranqui L, Olivares J, Winkler K, Wiedemann F & Kunz WS. (1998). Permeabilized cell and skinned fiber techniques in studies of mitochondrial function in vivo. *Mol Cell Biochem* **184**, 81-100.
- Saltin B & Calbet JA. (2006). Point: in health and in a normoxic environment, VO₂ max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *J Appl Physiol* **100**, 744-745.
- 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 NY Acad Sci* **301**, 3-29.
- Samitz G & Bachl N. (1991). Physical training programs and their effects on aerobic capacity and coronary risk profile in sedentary individuals. Design of a long-term exercise training program. *J Sports Med Phys Fitness* **31**, 283-293.
- Stratton JR, Levy WC, Cerqueira MD, Schwartz RS & Abrass IB. (1994). Cardiovascular responses to exercise. Effects of aging and exercise training in healthy men. *Circulation* **89**, 1648-1655.
- Tonkonogi M, Krook A, Walsh B & Sahlin K. (2000). Endurance training increases stimulation of uncoupling of skeletal muscle mitochondria in humans by non-esterified fatty acids: an uncoupling-protein-mediated effect? *Biochem J* **351 Pt 3**, 805-810.
- 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.

- Wagner PD. (2006). Counterpoint: in health and in normoxic environment VO₂max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *J Appl Physiol* **100**, 745-747; discussion 747-748.
- Walsh B, Tonkonogi M & Sahlin K. (2001). Effect of endurance training on oxidative and antioxidative function in human permeabilized muscle fibres. *Pflugers Arch* **442**, 420-425.
- Wasserman K, Stringer WW, Casaburi R, Koike A & Cooper CB. (1994). Determination of the anaerobic threshold by gas exchange: biochemical considerations, methodology and physiological effects. *Z Kardiol* **83 Suppl 3**, 1-12.
- Whipp BJ, Ward SA, Lamarra N, Davis JA & Wasserman K. (1982). Parameters of ventilatory and gas exchange dynamics during exercise. *J Appl Physiol* **52**, 1506-1513.
- Zoll J, Koulmann N, Bahi L, Ventura-Clapier R & Bigard AX. (2003a). Quantitative and qualitative adaptation of skeletal muscle mitochondria to increased physical activity. *J Cell Physiol* **194**, 186-193.
- Zoll J, N'Guessan B, Ribera F, Lampert E, Fortin D, Veksler V, Bigard X, Geny B, Lonsdorfer J, Ventura-Clapier R & Mettauer B. (2003b). Preserved response of mitochondrial function to short-term endurance training in skeletal muscle of heart transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* **42**, 126-132.
- 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.

Acknowledgements

This research was supported by the Clinical Research Department of Strasbourg's civil hospital and financed by Ministry for Health and Solidarity with a Regional Hospital Protocol of Clinical Research (2002).

Table 1: Physical subjects characteristics.

	Gender	Age	Height	Weight	BMI	Body Fat	Baecke index*
	male/ female	(years)	(cm)	(kg)	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$	(%)	
Female (\pm SEM)	n=4	42 ± 3	167 ± 6	62 ± 3	21.4 ± 0.6	28.4 ± 0.4	5.8 ± 0.4
Male (\pm SEM)	n=7	47 ± 4	178 ± 3	84 ± 9	26.2 ± 2.3	24.8 ± 2.3	5.9 ± 0.3
Total (\pm SEM)	n=10	45 ± 3	174 ± 3	76 ± 7	24.4 ± 1.6	26.1 ± 1.8	5.9 ± 0.3

*Physical subject level was evaluated by a questionnaire (Baecke JAH *et al.*, 1982), index less or equal to 7.5 corresponded to a sedentary subject and was the maximal value accepted to be included in this study. Body mass index (BMI) = Weight (kg) / Height² (m²).

Table 2: Systemic vascular conductance.

	CT		IT	
	Pre	Post	Pre	Post
Rest	65 ± 1	67 ± 1	65 ± 1	65 ± 1
VT ₁	128 ± 2	$145 \pm 4^*$	130 ± 3	143 ± 3
Peak exercise	169 ± 3	$180 \pm 3^*$	167 ± 3	$182 \pm 3^{**}$

Values are means \pm SEM and are expressed in $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{Hg}^{-1}$. ** different ($p < 0.01$) from pre-training values, * different ($p < 0.05$) from pre-training values.

Table 3: Kinetic parameter estimates for $\dot{V}O_2$, \dot{Q} and $D_{A-\bar{V}}O_2$ with CT.

Values are means \pm SEM. A_1 and A_{tot} , amplitude terms in $L \cdot \text{min}^{-1}$ for $\dot{V}O_2$, \dot{Q} and in $\text{mL} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ for $D_{A-\bar{V}}O_2$; td_1 , time delays to onset of each component; τ_1 , time constants.

	$\dot{V}O_2$		\dot{Q}		$D_{A-\bar{V}}O_2$	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
td_1 , s	12.4 \pm 0.7	9.6 \pm 0.8	1.3 \pm 0.7	1.2 \pm 1.3	17.1 \pm 1.2	14.8 \pm 1.2
τ_1 , s	60.6 \pm 2.7	52.8 \pm 1.4	54.5 \pm 2.7	61.3 \pm 4.3	29.5 \pm 1.0	30.8 \pm 0.7
A_1	1.90 \pm 0.07	1.68 \pm 0.06	9.7 \pm	10.5 \pm 0.3	6.4 \pm 0.3	6.8 \pm 0.2
A_{tot}	1.99 \pm 0.08	1.90 \pm 0.08	18.3 \pm 0.4	17.9 \pm 0.3	10.9 \pm 0.3	11.4 \pm 0.3

Table 4: Kinetic parameter estimates for $\dot{V}O_2$, \dot{Q} and $D_{A-\bar{V}}O_2$ with IT.

Values are means \pm SEM. A_1 and A_{tot} , amplitude terms in $L \cdot \text{min}^{-1}$ for $\dot{V}O_2$, \dot{Q} and in $\text{mL} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ for $D_{A-\bar{V}}O_2$; td_1 , time delays to onset of each component; τ_1 , time constants. * different ($p < 0.05$) from pre-training values.

	$\dot{V}O_2$		\dot{Q}		$D_{A-\bar{V}}O_2$	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
td_1 , s	8.5 \pm 0.7	12.6 \pm 0.3	1.0 \pm 0.6	0.6 \pm 0.4	16.6 \pm 1.2	16.3 \pm 1.1
τ_1 , s	68.0 \pm 1.6	54.9 \pm 0.7*	55.6 \pm 4.0	50.4 \pm 2.7	39.8 \pm 2.8	40.3 \pm 2.3
A_1	1.90 \pm 0.07	1.72 \pm 0.06	10.2 \pm 0.4	9.5 \pm 0.2	7.5 \pm 0.2	6.7 \pm 0.2
A_{tot}	1.93 \pm 0.07	1.92 \pm 0.07	18.3 \pm 0.4	18.9 \pm 0.4	12.3 \pm 0.3	11.0 \pm 0.3

Figure legends

Figure 1: effect on maximal values of oxygen uptake (A), cardiac output (B), arteriovenous oxygen difference (C), time to exhaustion during all-out test (D). Values are means \pm SEM. Black bar represent pre-training values and white bar are post-training values. ** Different ($p<0.01$), * different ($p<0.05$).

Figure 2, serial sections from *vastus lateralis* of a representative subject's. The identification of capillaries was performed using monoclonal antibody CD 31. A: before CT, B: after CT, C: before IT and D: after IT. Bar = 100 μ m.

Figure 3: A: maximal ADP stimulated respiration rates (V_{\max}) of *in situ* mitochondria from vastus lateralis, B: acceptor control ratio (ACR, V_{\max}/V_0) of *in situ* mitochondria from vastus lateralis. Oxygen consumption was measured in saponin permeabilised muscle fibres with glutamate and malate as substrates in an oxygraph cell and with a Clark electrode. Values are expressed in $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g fiber dry weight}^{-1}$. Values are means \pm SEM. ** Different from pre-training values, $p<0.01$ and * $p<0.05$ vs. pre-training values. Black bar represent pre-training values and white bar are post-training values

Figure 4, A: relation between gain of oxidative capacities of skeletal muscle ($\Delta\dot{V}_{\max}$) and gain of maximal oxygen uptake ($\Delta\dot{V}O_{2\max}$). B: Relation between gain of oxidative capacities of skeletal muscle ($\Delta\dot{V}_{\max}$) and gain of time during time to exhaustion (ΔT_{lim}). C: Relation between gain of maximal oxygen uptake ($\Delta\dot{V}O_{2\max}$) and gain of maximal cardiac output ($\Delta\dot{Q}_{\max}$). The relations are established after a period of 8 weeks of interval training.

Figure 1:

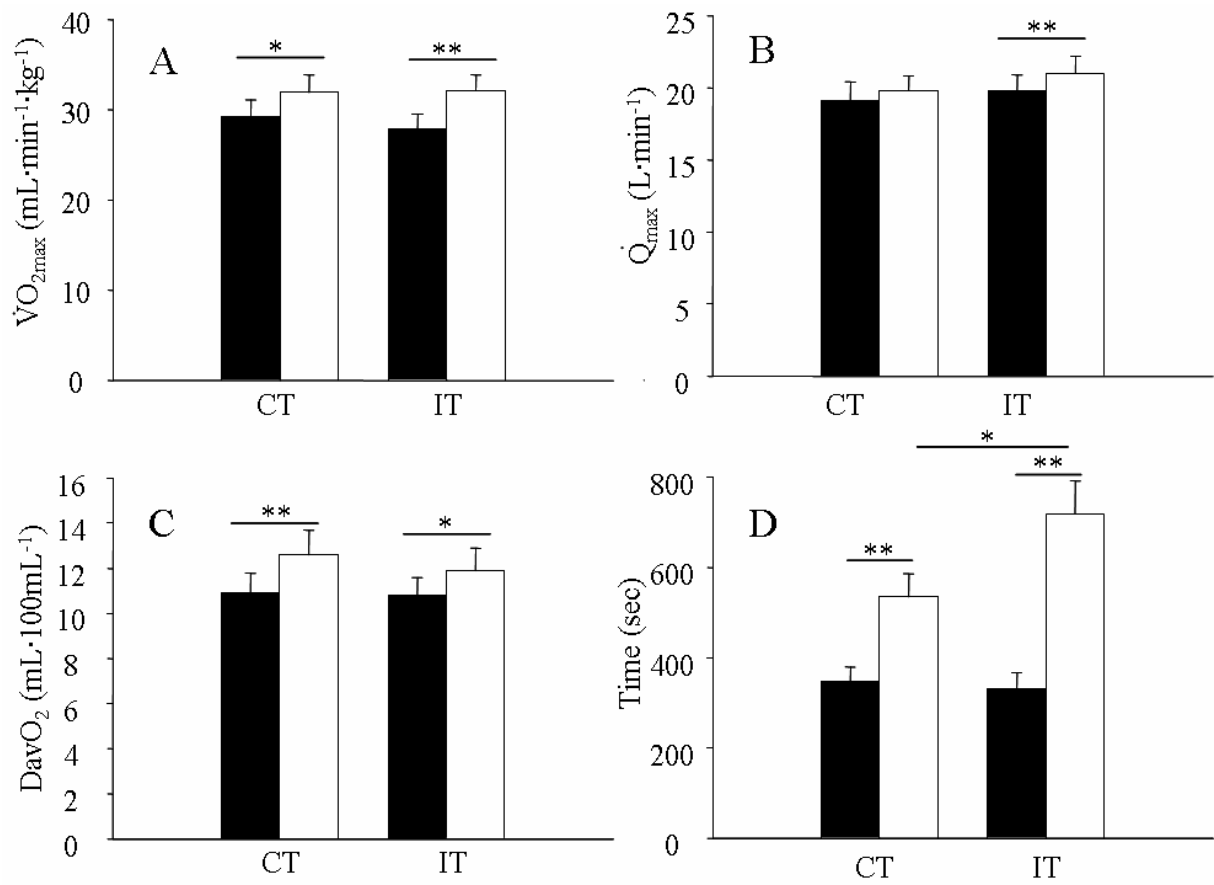


Figure 2:

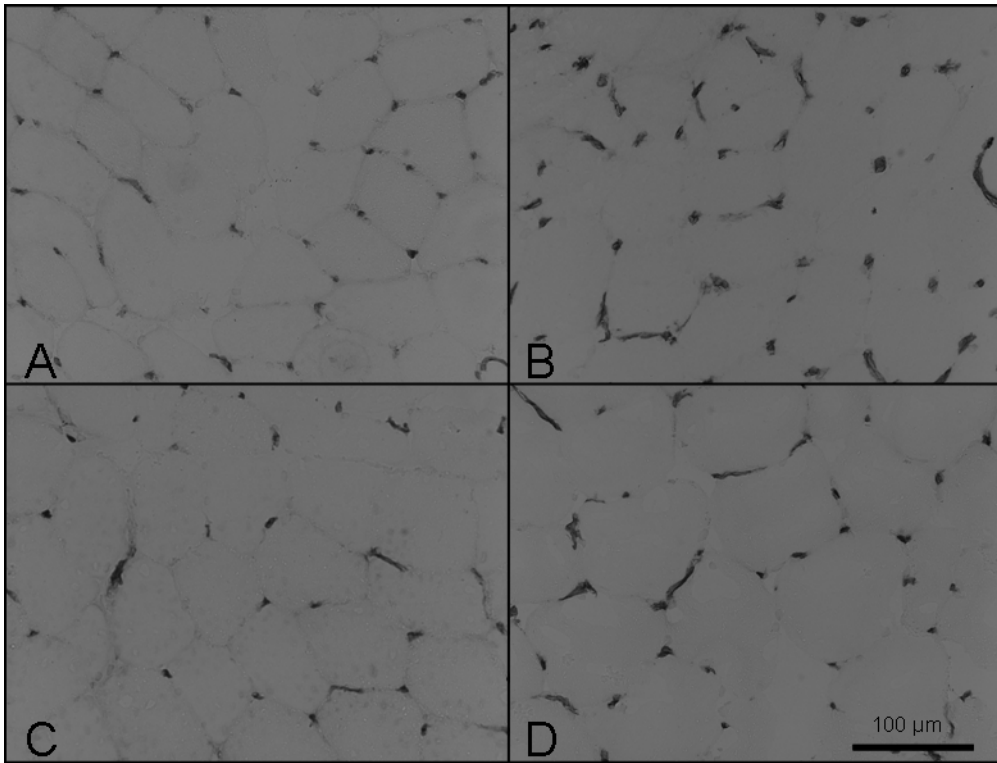


Figure 3:

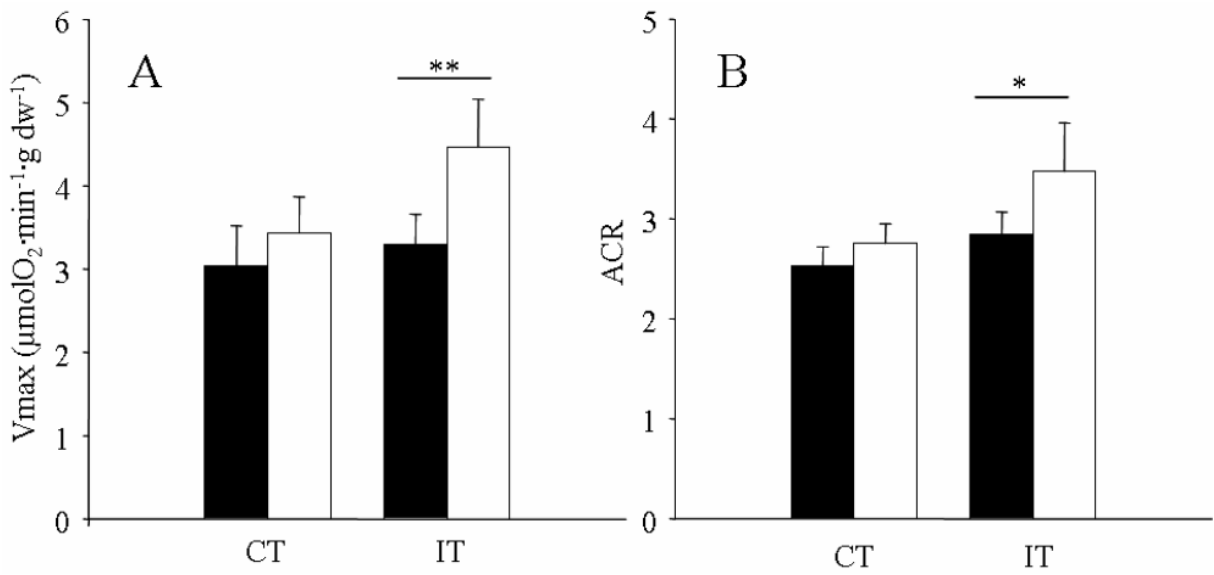
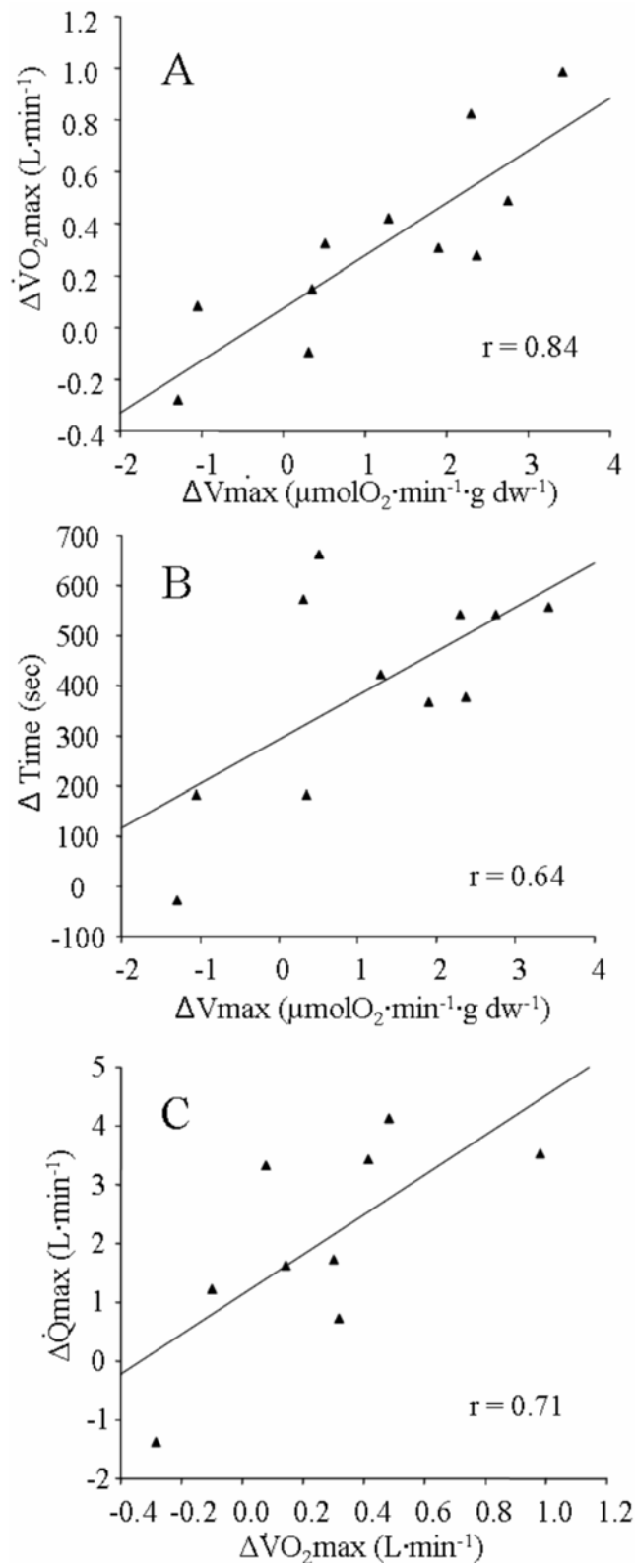


Figure 4:



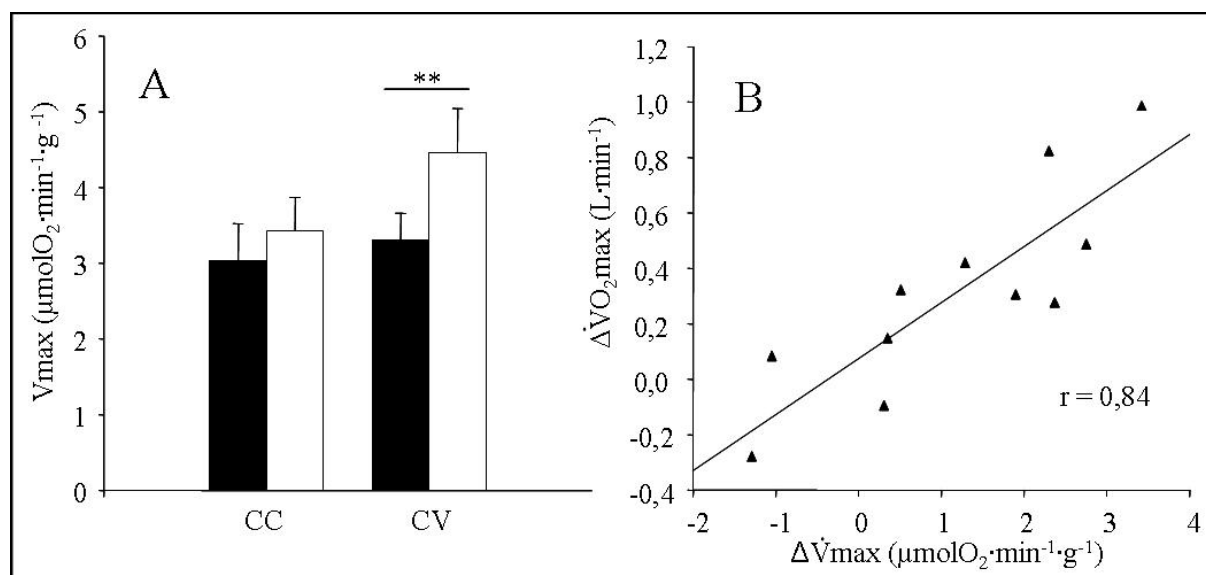
Principaux résultats :

Figure 17 : effet des modalités d'entraînement sur les capacités oxydatives musculaires et leur relation avec l'amélioration de la $\dot{V}O_{2max}$. A : comparaison des consommations maximales d' O_2 mitochondriales (barre pleine : valeur avant entraînement et barre vide : valeur après entraînement), B : relation entre les améliorations des consommations maximales d' O_2 mitochondriales et systémiques après l'entraînement à charge variable. **, $p < 0,01$.

Cette étude démontre des adaptations musculaires différentes selon les modalités d'entraînement. Seul l'entraînement à charge variable développe les capacités oxydatives musculaires. A l'opposé, la densité capillaire est augmentée par les deux modalités d'entraînement mais l'entraînement à charge constante la développe de manière plus importante que l'entraînement à charge variable. Toutes ces adaptations participent à l'amélioration de l'extraction musculaire de l' O_2 .

L'étude des relations entre les différentes variables améliorées lors de l'entraînement à charge variable met en évidence plusieurs relations. Le gain de $\dot{V}O_{2max}$ est lié à la fois aux améliorations des capacités oxydatives musculaires ($r=0,84$) et à l'augmentation du \dot{Q} au pic de l'exercice ($r=0,71$). Enfin, l'augmentation des capacités oxydatives musculaires est impliquée dans l'allongement de la durée du test de temps de maintien suggérant que les mitochondries jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire.

II. 2^{ème} ETUDE : INFLUENCE DE L'ENTRAÎNEMENT A HAUTE INTENSITE SUR LES CAPACITES MITOCHONDRIALES A UTILISER LES DIFFERENTS SUBSTRATS

II.1. Présentation

La comparaison de la fonction mitochondriale d'athlètes de haut niveau et de sujets sédentaires nous permet de déterminer les adaptations à long terme, induites par la pratique du sport de haut niveau avec des intensités de travail élevées. Cela nous a permis : 1) de déterminer l'influence de l'entraînement à long terme sur les capacités mitochondriales à oxyder les substrats énergétiques ; 2) d'étudier les adaptations qualitatives de la chaîne de transport des électrons qui peuvent interférer dans l'amélioration des capacités oxydatives musculaires.

II.2. Résultats

Ces résultats font l'objet d'un article soumis pour publication :

Training at high exercise intensity preferentially promotes mitochondrial carbohydrate oxidation pathway in skeletal muscle. Soumis au Journal of Physiology.

Training at high exercise intensity preferentially promotes mitochondrial carbohydrate oxidation pathway in skeletal muscle

Frédéric N. Daussin¹, Joffrey Zoll¹, Elodie Ponsot¹, Stéphane P. Dufour¹, Stéphane Doutreleau¹, Evelyne Lonsdorfer¹, Renée Ventura-Clapier^{2,3}, Bertrand Mettauer^{1,4}, François Piquard¹, Bernard Geny¹, Ruddy Richard¹

¹ CHRU of Strasbourg, Physiology and Functional Explorations Department, Civil Hospital, F67091 Strasbourg, France and University Louis Pasteur, Faculty of Medicine, Physiology Department, UPRES E.A. 3072, Strasbourg, France.

² Inserm, U769, Châtenay-Malabry, F-92296 France;

³ Univ Paris-Sud, Châtenay-Malabry, F-92296 France ;

⁴ Cardiology Department, Civil Hospital, F68024 Colmar, France

FD and JZ contributed equally to this work.

Address for reprint request and other correspondence:

Joffrey Zoll,

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

Phone: 0033 (0)3 88 11 61 22

Fax: 0033 (0)3 88 11 64 67

E-mail: joffrey.zoll@medecine.u-strasbg.fr

Running title : qualitative adaptations of mitochondria with high intensity training

Key words : mitochondria, metabolism, and exercise

Wordcount: 3987

ABSTRACT

This study explored adaptations of fuel preferences and functional optimisation of the mitochondrial respiratory chain complexes in athletes who regularly train at high exercise intensity. Seven sedentary (SED) and seven regularly trained athletes (ATH) participated to the study. Peak O₂ uptake (VO_{2max}) was measured and muscle biopsies of *Vastus Lateralis* were collected. Maximal O₂ uptake of saponin-skinned myofibres was evaluated with several metabolic substrates (glutamate-malate (V_{GM}), pyruvate (V_{PYR}), palmitoyl carnitine (V_{PC}) and the activity of mitochondrial respiratory complexes II and IV were assessed using succinate (V_S) and TMPD (V_{TMPD}) respectively. VO_{2max} was significantly higher in ATH than in SED (57.8±2.2 vs. 31.4±1.3 mL·min⁻¹·kg⁻¹, respectively). V_{GM} was higher in ATH than in SED (8.6±0.5 vs. 3.3±0.3 μmol O₂·min⁻¹·g⁻¹ dry weight, respectively). V_{PYR} was higher in ATH than in SED (8.7±1.0 vs. 5.5±0.2 μmol O₂·min⁻¹·g⁻¹ dry weight respectively) whereas V_{PC} was not significantly different (5.3±0.9 vs. 4.4±0.5 μmol O₂·min⁻¹·g⁻¹ dry weight, respectively). V_S was significantly higher in ATH than in SED (11.0±0.6 vs. 6.0±0.3 μmol O₂·min⁻¹·g⁻¹ dry weight, respectively). V_{TMPD} was also significantly higher in ATH than in SED (20.1±1.0 vs. 16.2±1.1 μmol O₂·min⁻¹·g⁻¹ dry weight, respectively). The ratio V_S/V_{GM} (1.3±0.1 vs. 2.0±0.1, respectively) and V_{TMPD}/V_{GM} (2.4±1.0 vs. 5.2±1.8, respectively) was lower in ATH than in SED. In conclusion, this study demonstrated that the mitochondrial function of high-intensity endurance trained athletes differs from sedentary subjects, exhibiting qualitative adaptations, enhancing carbohydrate rather than fatty acids pathway, and improving activities of the complexes of the mitochondrial respiratory chain.

Training at high exercise intensity promotes qualitative adaptations of mitochondrial function in human skeletal muscle

Frédéric N. Daussin, Joffrey Zoll, Elodie Ponsot, Stéphane P. Dufour, Stéphane Doutreleau, Evelyne Lonsdorfer, Renée Ventura-Clapier, Bertrand Mettauer, François Piquard, Bernard Geny, Ruddy Richard

Journal of applied physiology, 2008, Vol. 104, Pages 1436-1441.

Pages 141-158 :

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

Les utilisateurs de l'ULP peuvent consulter cette publication sur le site de l'éditeur :

<http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.01135.2007>

La version imprimée de cette thèse peut être consultée à la bibliothèque ou dans un autre établissement via une demande de prêt entre bibliothèques (PEB) auprès de nos services :

<http://www-sicd.u-strasbg.fr/services/peb/>

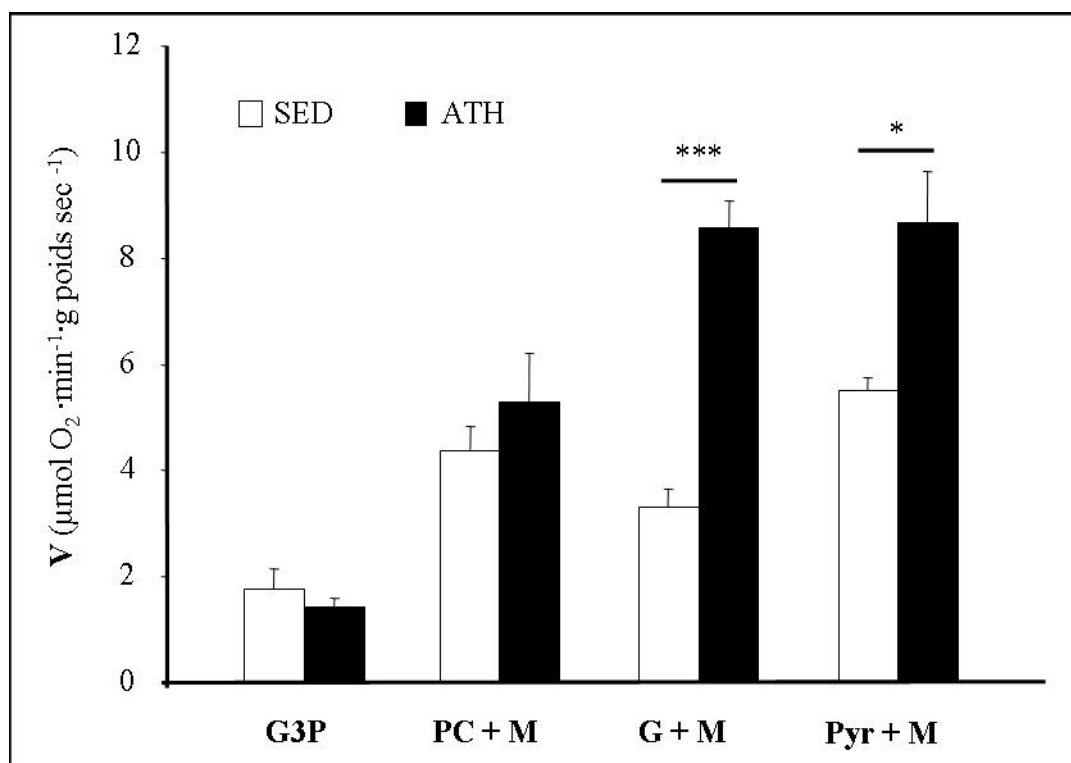
Principaux résultats :

Figure 18 : comparaison des capacités mitochondriales des sédentaires (SED) et des athlètes (ATH) à utiliser les différents substrats. G3P : Glycérol-3-Phosphate, PC : Palmitoyl-Carnitine, G : Glutamate, M : Malate, Pyr : Pyruvate. ***, $p < 0,001$ et *, $p < 0,05$.

Cette étude met en évidence une capacité mitochondriale à oxyder les carbohydrates supérieure chez les athlètes de haut niveau qui s'entraînent en endurance à haute intensité. A l'opposé, aucune différence n'est mise en évidence sur la capacité des mitochondries à oxyder les acides gras.

Les athlètes présentent une plus grande capacité oxydative musculaire que les sujets sédentaires. Cette adaptation quantitative est associée à une adaptation qualitative en modifiant l'activité des différents complexes de la chaîne respiratoire. Ainsi, l'activité du complexe I, comparée à l'activité des autres complexes, est plus importante chez les athlètes.

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Discussion générale

Les principaux objectifs de cette thèse étaient de déterminer l'influence de la modalité d'entraînement sur la performance aérobie et sur les capacités musculaires oxydatives ainsi que l'adaptation de la fonction mitochondriale lors de l'entraînement en endurance à haute intensité. Nous avons souhaité :

1) Comparer l'effet de deux modalités d'entraînement (continu vs. intervalle) ayant une dépense énergétique et une durée d'entraînement identiques. Cela nous a permis de tester les hypothèses suivantes :

- L'entraînement à charge variable influence principalement la composante centrale de la $\dot{V}O_{2\max}$ tandis que l'entraînement à charge constante module davantage la composante périphérique.
- Le niveau de stress métabolique lié à l'intensité de l'exercice joue un rôle central dans l'adaptation de la fonction mitochondriale et de la densité capillaire à l'entraînement.
- La modification de la fonction mitochondriale est impliquée dans les modifications des cinétiques de $\dot{V}O_2$, \dot{Q} et $D_{a-\bar{v}}O_2$ et de l'augmentation de la $\dot{V}O_{2\max}$.

2) Comparer la fonction mitochondriale de sujets sédentaires et d'athlètes de haut niveau en endurance. Nous avons émis les hypothèses suivantes :

- L'entraînement en endurance à haute intensité modifie la capacité mitochondriale d'oxydation des différents substrats énergétiques.
- L'entraînement en endurance à haute intensité entraîne une modification qualitative de la chaîne des complexes respiratoires qui participent à l'amélioration de la fonction mitochondriale.

Ces résultats devraient nous aider à construire des programmes d'entraînement ciblés dans le domaine de la réhabilitation des maladies chroniques. Ils apportent des informations sur l'adaptation de la fonction mitochondriale en réponse à l'entraînement en endurance.

Principaux résultats :

- L'entraînement à charge variable influence les composantes centrale (transport et convection de l'oxygène) et périphérique (capacités oxydatives musculaires) tandis que l'entraînement à charge constante influence uniquement la composante périphérique.
- La variation de l'intensité au cours de l'exercice est un facteur central dans l'amélioration de la fonction mitochondriale.
- Il semble que l'amélioration des capacités oxydatives musculaires soit à l'origine de l'augmentation de la $\dot{V}O_{2\max}$. L'amélioration du \dot{Q}_{\max} n'est pas nécessaire pour améliorer la $\dot{V}O_{2\max}$ mais associée à l'augmentation des capacités oxydatives musculaires, elle permet de majorer le gain de $\dot{V}O_{2\max}$.
- L'entraînement en endurance régulier à haute intensité développe la capacité des mitochondries à oxyder les carbohydrates.
- Le fonctionnement des complexes de la chaîne respiratoire est qualitativement modifié par un entraînement régulier important effectué à haute intensité (sportif entraîné en endurance).

I.1. Comparaison de deux modalités d'entraînement chez le sujet sédentaire

I.1.1. Effets sur la performance aérobie

La comparaison de deux modalités d'entraînement, associée à une dépense énergétique et une durée de séance identiques, a mis en évidence un effet spécifique de la modalité d'entraînement sur l'amélioration de la performance. Ainsi, huit semaines d'entraînement à charge variable augmentent de 34% la $\dot{V}O_{2\max}$ tandis qu'une augmentation de seulement +11% est observée lors de l'entraînement à charge constante. Le faible gain de $\dot{V}O_{2\max}$, après l'entraînement à charge constante, est similaire au gain prédit par Wenger *et al.* (Wenger & Bell, 1986) pour des charges d'entraînement identiques (intensité, fréquence d'entraînement, durée de la séance et niveau initial des sujets). Cependant, plusieurs études, faisant état de gains plus importants (Stratton *et al.*, 1994; Beere *et al.*, 1999; McGuire *et al.*, 2001), se différencient de la nôtre par une intensité d'entraînement supérieure (plus de 75% de $\dot{V}O_{2\max}$) et/ou une durée d'entraînement plus longue (de 3 à 6 mois).

L'objectif principal de notre étude était de déterminer l'effet de la modalité d'entraînement sur les adaptations centrale et périphérique, cela n'étant possible que si la dépense énergétique et la durée d'entraînement sont identiques pour les deux modalités. Dans notre étude, nous avons choisi d'utiliser un programme d'entraînement à charge variable utilisant des intensités d'entraînement similaires à celles utilisées par les patients du service. L'intensité de l'entraînement à charge constante était calculée en fonction des intensités calculées pour l'entraînement à charge variable de manière à exposer les sujets à une dépense énergétique identique. Cette méthodologie explique la faible intensité utilisée dans notre étude. Cependant une étude effectuée par Warburton *et al.* (Warburton *et al.*, 2004) avec des intensités d'entraînement similaires, chez des sujets sédentaires, n'a pas démontré d'effet spécifique lié à la modalité. Au cours de cette étude d'une durée de 12 semaines, les intensités d'entraînement étaient régulièrement adaptées afin de maintenir une stimulation cardiaque constante tout au long de la période d'entraînement. Ces adaptations de charges permettent de maintenir une stimulation d'exercice importante tout au long de la période d'entraînement. Dans notre étude nous n'avons pas élevé les charges d'entraînement afin de maintenir une dépense énergétique identique entre les deux modalités d'entraînement. Mais, pour augmenter progressivement la charge d'entraînement, nous avons choisi d'augmenter régulièrement la durée de la séance d'entraînement. Progressivement, au cours de la période d'entraînement, les sujets s'adaptent et, pour une même intensité d'exercice, la Fc diminue et démontre une amélioration du niveau d'aptitude physique (Gorostiaga *et al.*, 1991). La sollicitation cardiaque, au cours de notre protocole, diminue progressivement tout au long de la période d'entraînement lors des deux modalités. Si la sollicitation diminue progressivement pendant l'entraînement à charge constante, l'application de pics d'exercice à 90% de la PMA initiale permet de d'exercer une sollicitation importante malgré l'adaptation progressive.

Au vu de nos résultats, on peut émettre l'hypothèse que l'application de pics de puissance, pendant l'entraînement à charge variable, déstabilise l'organisme tout au long de la période d'entraînement tandis que la sollicitation au cours de l'entraînement à charge constante devient progressivement trop faible pour déstabiliser l'homéostasie cellulaire et amplifier les adaptations induites par les premières séances. Cela justifierait aussi l'augmentation de l'intensité associée aux seuils ventilatoires observée au cours de cette étude. En effet seul l'entraînement à charge variable propose des intensités d'entraînement voisines des deux seuils ventilatoires tandis que l'intensité de l'entraînement à charge constante est légèrement supérieure au SV_1 . Ces résultats sont en accord avec la méta-analyse effectuée par Londeree (Londeree, 1997) qui conclut que l'intensité d'entraînement doit être

équivalente ou légèrement supérieure, à celle associée au seuil afin d'augmenter sa valeur absolue.

L'entraînement à charge variable a entraîné une adaptation centrale, à travers l'augmentation combinée de la Fc et du VES, en accord avec de précédents travaux (Beere *et al.*, 1999; McGuire *et al.*, 2001). *A contrario*, aucune modification du \dot{Q}_{\max} n'est observée après l'entraînement à charge constante alors que Stratton *et al.* (Stratton *et al.*, 1994) l'observent chez des sujets présentant des caractéristiques similaires. De manière similaire à son effet, lors de l'entraînement continu sur les seuils et la $\dot{V}O_{2\max}$, il semble que l'intensité d'exercice sous-maximale (environ 60% de la PMA) soit insuffisante pour déstabiliser l'organisme. Il est donc possible qu'un niveau de sollicitation cardiaque minimum au cours de l'entraînement soit requis pour induire une modification du \dot{Q}_{\max} .

Au niveau périphérique, les deux modalités d'entraînement entraînent une amélioration de la $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$. La combinaison de l'ensemble de nos résultats permet de dégager différents mécanismes à l'origine de cette amélioration. Les augmentations de la densité capillaire et de la conductance, observées avec l'entraînement à charge constante, favorise l'extraction de l'O₂ aussi bien à l'effort maximal que sous-maximal. L'augmentation du nombre de capillaire par fibre et la sinuosité des capillaires augmentent la surface d'échange entre les compartiments sanguin et musculaire (Hepple *et al.*, 2000). Au final, les distances entre les capillaires et le site d'utilisation de l'O₂ (mitochondries) sont diminuées (Prior *et al.*, 2004). De manière globale, cela améliore la perfusion musculaire et une perfusion plus homogène est observée après entraînement (Kalliokoski *et al.*, 2001). Au contraire, l'entraînement à charge variable n'améliore la $D_{a-\bar{v}}O_2$ qu'à l'effort maximal malgré une amélioration de la densité capillaire qui reste cependant inférieure à celle observée avec l'entraînement à charge constante. Nos résultats soulignent le rôle du développement du réseau capillaire dans l'amélioration de la $D_{a-\bar{v}}O_2$ et confirment les travaux de Howlett *et al.* (Howlett *et al.*, 2003) effectués chez l'animal. Les différences de capacités d'endurance de deux lignées de rats s'expliquent par des adaptations musculaires où le développement du réseau capillaire entraînait une meilleure conductance musculaire et permettait une meilleure extraction de l'O₂.

L'amélioration de la $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$ avec l'entraînement à charge variable solliciterait donc d'autres mécanismes adaptatifs. L'amélioration du \dot{Q}_{\max} associée à l'augmentation de la densité capillaire, participe à l'amélioration de la conductance musculaire au pic d'effort et expliquerait en partie l'amélioration de la $D_{a-\bar{v}}O_{2\max}$. L' O_2 est majoritairement transportée dans le sang en étant combiné à l'hémoglobine, pour former de l'oxyhémoglobine. Il existe une relation entre la saturation de l'hémoglobine et la PO_2 , mis en évidence par la courbe sigmoïde de dissociation de l'hémoglobine. Seul l'entraînement à charge variable entraîne une augmentation de la production de lactates au pic de l'effort. Or, il est connu que la production de lactates est associée à une diminution du pH qui déplace la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine vers la droite, diminuant ainsi son affinité pour l' O_2 : c'est l'effet Bohr. Grassi *et al.* (Grassi *et al.*, 1999) ont démontré qu'au-delà de 60-65% de $\dot{V}O_{2\max}$, la dissociation de l'oxyhémoglobine est augmentée. L'entraînement à charge variable avec de courtes périodes d'effort à des intensités supérieures à 60-65% de $\dot{V}O_{2\max}$ sollicite ce mécanisme à plusieurs reprises au cours de la séance d'entraînement.

Ces adaptations différenciées expliqueraient les différences de résultats obtenues lors du test de temps de maintien. Si les deux modalités d'entraînement améliorent la durée de l'exercice exhaustif, l'amélioration est plus prononcée avec l'entraînement à charge variable. Nous pouvons émettre l'hypothèse que la densité capillaire joue un rôle important dans l'amélioration de l'endurance et que les améliorations supplémentaires associées à l'entraînement à charge variable permettent de majorer ces résultats. Il est possible que toutes ces adaptations induisent une diminution des perturbations cellulaires au cours de l'exercice qui sont à l'origine de l'arrêt de l'exercice (Green, 1997).

I.1.2. Effets sur la fonction mitochondriale et sa relation avec la performance

Notre étude montre que seul l'entraînement à charge variable entraîne une augmentation significative des capacités oxydatives musculaires. On peut estimer que le stimulus associé à l'entraînement à charge constante est insuffisant pour activer les voies de signalisation à l'origine de la biogenèse mitochondriale. Pendant les séances d'entraînement à charge variable, les sujets effectuent des pics de 1 minute à 90% de PMT ; le reste du temps, l'intensité est voisine de 49% de PMT et inférieure à celle de l'entraînement à charge constante. L'augmentation de l'intensité, lors du passage de la base au pic pendant

l'entraînement à charge variable, diminue le ratio ATP/ADP, élève la quantité d'AMP et modifie le potentiel redox (NAD⁺/NADH). Or, ces paramètres modulent l'activité mitochondriale et les facteurs de transcriptions (Chance, 1970; Hood *et al.*, 2006; Freyssenet, 2007). Au vu de nos résultats, il semble que la variation de la demande énergétique durant la séance d'entraînement active la voie de signalisation de la biogenèse mitochondriale.

Des modifications de la compartimentation cellulaire dans les fibres oxydatives et de l'énergétique musculaire sont décrites dans la littérature (Saks *et al.*, 2000; Zoll *et al.*, 2003). Il est possible que ces modifications cellulaires, induites par l'entraînement à charge variable, entraînent une diminution des perturbations cellulaires liées aux variations d'intensité et participent au maintien de l'homéostasie cellulaire. En effet, l'augmentation de l'activité des enzymes mitochondriales est plus importante que l'augmentation de la $\dot{V}O_{2\max}$ après un entraînement en endurance (Holloszy & Coyle, 1984). Ces modifications permettraient de maintenir, pour une même intensité absolue, des concentrations cytosoliques en ATP supérieures et de réduire parallèlement l'augmentation de la concentration cytosolique en ADP (Dudley *et al.*, 1987). Au final, cela permet de ne pas solliciter les mitochondries à 100% de leur capacité, ce qui améliorerait leur fonctionnement (Hood, 2001).

La notion de déstabilisation de l'homéostasie cellulaire semble importante dans l'amélioration des capacités oxydatives musculaires. Plusieurs travaux démontrent une adaptation mitochondriale suite à l'application d'un stress cellulaire. Dans notre étude, l'entraînement à charge variable requiert des périodes où l'intensité est supérieure à 60%. Or, la PO₂ cellulaire chute lorsque l'intensité de l'exercice dépasse 60% de PMT (Richardson *et al.*, 2001). Une hypoxie intracellulaire est donc créée au cours de l'entraînement et peut participer aux adaptations musculaires. De même, nous avons démontré des adaptations qualitatives mitochondriales chez des athlètes ayant suivi un entraînement en hypoxie, suggérant que le stress hypoxique participe aux adaptations (Ponsot *et al.*, 2006). Gibala *et al.* (Gibala *et al.*, 2006) a démontré qu'un exercice bref et intense est une stratégie possible pour développer les capacités oxydatives musculaires et la performance aérobie. Ces résultats suggèrent également qu'une déstabilisation de l'homéostasie cellulaire importante, par la modification de la demande énergétique, permet de stimuler la biogenèse mitochondriale. Au contraire, la stimulation mécanique semble avoir un rôle moindre dans la biogenèse mitochondriale. En effet, la comparaison d'entraînement en normoxie et hyperoxie, sollicitant une même fréquence cardiaque, a démontré des adaptations mitochondriales similaires malgré une charge mécanique supérieure en hyperoxie (Perry *et al.*, 2007).

Il est important de déterminer quelle est la part des adaptations centrales et périphériques dans l'amélioration de la performance aérobie. Une corrélation entre les augmentations des capacités oxydatives musculaires et du $\dot{V}O_{2\max}$ est obtenue dans notre étude, en accord avec des publications antérieures (Saltin *et al.*, 1977; Rasmussen *et al.*, 2001). Cela démontre l'importance des adaptations métaboliques musculaires dans l'amélioration de la performance aérobie chez les sujets sédentaires. Ainsi, l'amélioration de la $\dot{V}O_{2\max}$ est dépendante de l'augmentation des capacités des mitochondries à produire plus d'énergie d'origine aérobie. Nous avons également observé une corrélation entre $\Delta\dot{Q}_{\max}$ et $\Delta\dot{V}O_{2\max}$, après l'entraînement en charge variable, qui corrobore l'hypothèse selon laquelle le \dot{Q} est un facteur majeur dans la limitation de la $\dot{V}O_{2\max}$ (Bassett & Howley, 2000). Cependant, l'entraînement à charge constante améliore la $\dot{V}O_{2\max}$ sans augmenter le \dot{Q} , démontrant ainsi que celui-ci n'est pas le premier déterminant de l'amélioration de la $\dot{V}O_{2\max}$ chez des sédentaires. Notre étude montre donc que les adaptations périphériques sont nécessaires pour améliorer la $\dot{V}O_{2\max}$.

Les résultats issus de l'étude des cinétiques d'ajustement à l'effort, en accord avec des publications antérieures (Chuang *et al.*, 2002; Richard *et al.*, 2004), démontrent que l'extraction d' O_2 au niveau musculaire est plus rapide que l'ajustement du \dot{Q} . Ces données suggèrent que le \dot{Q} s'ajuste en fonction des capacités oxydatives musculaires. Lors d'une étude récente, analysant les ajustements cardio-circulatoires au cours d'un exercice, nous avons montré que la réponse circulatoire à l'exercice était liée à la stimulation métabolique correspondant à la demande en O_2 (Dufour *et al.*, 2007). Associés à cette précédente étude, nos résultats suggèrent que l'ajustement du \dot{Q} s'effectue de manière secondaire en fonction de la $D_{a-\bar{v}}O_2$ afin d'ajuster la quantité d' O_2 nécessaire à l'exercice. De plus, nous avons observé une accélération des cinétiques de $\dot{V}O_2$ après l'entraînement à charge variable qui est le seul à modifier les capacités oxydatives de nos sujets. Ainsi, le muscle jouerait donc un rôle prépondérant lors de l'amélioration des capacités fonctionnelles et lors de l'ajustement cardio-circulatoire à l'exercice.

I.2. Comparaison de la fonction mitochondriale : sédentaires vs. sportifs

I.2.1. Capacité d'oxydation des substrats

Nous observons une augmentation de la capacité des mitochondries à oxyder les carbohydrates. Ces résultats peuvent paraître en contradiction avec certaines données de la littérature. L'entraînement est connu pour augmenter l'utilisation des lipides au profit des carbohydrates comme substrats énergétiques à des intensités relatives et absolues (Holloszy & Coyle, 1984). Cependant, l'utilisation des carbohydrates augmente avec l'intensité de l'exercice pour devenir le substrat principal à haute intensité et la quantité de carbohydrates oxydés est proportionnellement plus importante chez des sujets entraînés (Brooks & Donovan, 1983; Coggan *et al.*, 1990). Ces données sont en accord avec l'entraînement de nos athlètes qui effectuent environ 1/3 de leur volume d'entraînement à très haute intensité (>pSV₂) et sollicitent donc majoritairement l'oxydation des carbohydrates.

Il a été démontré une augmentation de la capacité de transport et d'utilisation du glucose dans le muscle chez les sujets entraînés (Fluck, 2006). De plus, l'étude de Kristiansen *et al.* (Kristiansen *et al.*, 2000) ont rapporté une augmentation des transporteurs du glucose (GLUT-4) dans la jambe entraînée tandis qu'aucune modification n'est mise en évidence dans la jambe contrôle. Ces adaptations sont corrélées à une plus grande importation du glucose, dans le muscle, lors d'exercice à haute intensité. Ces résultats suggèrent que l'entraînement développe également la capacité du muscle à utiliser le glucose lors d'exercice à haute intensité. La comparaison du QR de deux groupes d'athlètes, normalement alimentés, courant le marathon à 73,3% et 64,5% de $\dot{V}O_{2\max}$ a mis en évidence l'utilisation des carbohydrates comme substrat dominant tout au long de la durée du marathon (O'Brien *et al.*, 1993). Ainsi, l'entraînement à haute intensité modifie la capacité des mitochondries à oxyder les carbohydrates afin d'augmenter les capacités musculaires à utiliser le substrat prioritairement utilisé par les athlètes au cours de leur compétition.

La capacité des athlètes à oxyder les acides gras n'est pas différente de celle des sujets sédentaires. Ces résultats soutiennent une étude moléculaire qui rapporte une quantité similaire d'ARN messagers codant pour des enzymes utilisées dans l'oxydation des acides gras dans le *tibialis antérieur* chez des sportifs et des sédentaires (Schmitt *et al.*, 2003). Ces résultats sont cohérents avec le fait que, lors de leurs compétitions, nos athlètes produisent un effort dont l'intensité est supérieure à 80% de $\dot{V}O_{2\max}$ et utilisent majoritairement des carbohydrates.

I.2.2. Adaptation des complexes de la chaîne respiratoire

L'amélioration des capacités oxydatives musculaires observées chez les sportifs entraîne une augmentation de la production des équivalents réducteurs transférés au niveau de la chaîne respiratoire. Nos résultats suggèrent une augmentation de l'activité du complexe I chez les athlètes qui, associée à un meilleur couplage entre l'oxydation et la phosphorylation, permet une optimisation du fonctionnement de la chaîne de transport des électrons, alors que le complexe I est reconnu comme un des facteurs limitants du fonctionnement de la chaîne respiratoire (Rossignol *et al.*, 2000). L'entraînement en endurance modifie donc qualitativement les mitochondries afin d'en améliorer le fonctionnement.

Perspectives

II.1. Adaptations, entraînement et performance aérobie

Notre étude démontre un effet spécifique de la modalité d'entraînement sur les adaptations à l'origine d'une amélioration de la performance. Ces résultats doivent permettre une meilleure prescription de l'entraînement en endurance afin de cibler les adaptations nécessaires à l'amélioration de la qualité de vie des patients atteints de maladie chronique. Il semble que le niveau de puissance métabolique ($\dot{V}O_2$) soit une variable centrale dans l'amélioration des performances aérobies. Aussi, de nouvelles études doivent permettre de déterminer l'importance des stimulations métaboliques et mécaniques. Au sein de notre laboratoire, dans le cadre d'un précédent travail de thèse, ont été mis en évidence les rôles respectifs de la stimulation métabolique et mécanique dans l'adaptation à l'exercice (Dufour *et al.*, 2007). L'utilisation de nouvelles techniques d'entraînement permettrait de préciser les adaptations induites par les stimulations mécaniques et métaboliques. L'entraînement en excentrique permet de développer une plus grande puissance mécanique pour une sollicitation métabolique identique à un exercice effectué en mode concentrique. Alors qu'un entraînement en hypoxie permet d'accroître la demande métabolique en comparaison à un effort produit en normoxie.

Nos résultats, au niveau systémique, mettent en évidence que l'entraînement en endurance chez le sédentaire améliore la $\dot{V}O_{2\max}$ par des adaptations à la fois centrales et périphériques. 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. L'étude des débits sanguins musculaires et la détermination des contenus en O₂ dans les compartiments sanguins artériel et veineux permettraient de préciser nos observations. De plus, il est possible techniquement d'effectuer des tests d'effort maximaux sur ergocycle en présence de cathéters (artère fémorale et veine fémorale). L'utilisation de cette méthodologie permettrait de déterminer de manière précise les rôles respectifs du débit sanguin musculaire et des capacités de diffusion musculaire dans l'amélioration de la performance aérobie.

Au niveau cellulaire, une première étape pourrait comporter l'analyse des adaptations transcriptionnelles. Cela nous permettrait de déterminer l'influence des modalités d'entraînement sur les différentes voies de signalisation à l'origine des adaptations

musculaires. De plus, nos travaux suggèrent que l'entraînement améliorerait le maintien de l'homéostasie cellulaire lors de l'exercice. Il serait intéressant de compléter l'étude des transcrits par une analyse fonctionnelle, afin de vérifier, au niveau protéique, les résultats observés au niveau transcriptionnel.

II.2. Régulation de la fonction mitochondriale

La biogenèse mitochondriale sollicite deux mécanismes adaptatifs : 1) l'augmentation du nombre de mitochondries par gramme de tissu et 2) un changement qualitatif de la composition en protéines et lipides de la mitochondrie, qui permet des adaptations « fines » de la fonction mitochondriale comme, par exemple, une augmentation des défenses contre le stress oxydant (St-Pierre *et al.*, 2006). Plusieurs facteurs de transcription (PGC-1 α , NRF1-2, Tfam) sont connus pour influencer la biogenèse mitochondriale. Nos résultats démontrent une influence de la modalité d'entraînement sur la biogenèse mitochondriale et suggèrent que le flux énergétique durant la session d'entraînement joue un rôle prépondérant dans cette biogenèse. L'étude des ARN messagers sur des fragments musculaires de l'étude devrait nous permettre de préciser l'influence des modalités d'entraînement sur les voies de signalisation modulant la biogenèse mitochondriale. De nouvelles études, modulant les stimuli métaboliques et mécaniques permettront d'approfondir nos connaissances sur les voies de signalisation de la biogenèse mitochondriale qui ne sont pas totalement identifiées. De plus, il serait intéressant de compléter ces études par une analyse fine de la structure cellulaire permettant l'accès à la compartimentation cellulaire. Cela permettrait la localisation des structures intracellulaires telles que les mitochondries et leur organisation au sein des unités énergétiques cellulaires (Saks *et al.*, 2004; Vendelin *et al.*, 2005).

Notre étude comparative sur les modifications de la capacité mitochondriale à oxyder les différents substrats et les modifications de l'activité des différents complexes de la chaîne respiratoire nécessite de nouvelles études afin de préciser les mécanismes à l'origine de ces adaptations. L'utilisation de différents modes d'entraînement doit être sollicitée afin d'identifier les mécanismes influant les adaptations qualitatives mitochondriales. De plus l'analyse des facteurs de transcription devrait compléter nos analyses afin d'identifier précisément les voies de signalisation sollicitées et, associée à l'étude de la synthèse protéique, nous pourrions vérifier l'impact du niveau transcriptionnel sur la production des protéines.

II.3. Rôle des radicaux libres oxygénés

Les RLO produits au sein des mitochondries jouent un rôle majeur dans le développement des altérations mitochondriales musculaires (Martinez, 2006). Une forte production de RLO entraîne une peroxydation des lipides et des dommages importants des membranes cellulaires, des protéines et de l'ADN mitochondrial (Zorov *et al.*, 2006). Cependant, à côté des effets délétères générés par la production mitochondriale de radicaux libres oxygénés, le concept d'une activation de la biogenèse mitochondriale par les RLO commence à susciter de l'intérêt. Une augmentation modérée et/ou de courte durée de la production des RLO pourrait stimuler la biogenèse mitochondriale en interagissant avec des facteurs de transcription (Pattwell *et al.*, 2004). Ainsi, le niveau de stress oxydant modulerait les facteurs contrôlant la biogenèse mitochondriale. Le développement de nouvelles techniques comme la mesure de la production de RLO par les mitochondries, *via* une analyse par fluorométrie sur fibres perméabilisées, devrait participer à la compréhension du rôle des RLO dans la biogenèse et l'apoptose mitochondriale. L'étude des effets de l'entraînement sur les capacités de production des RLO et sur les défenses contre le stress oxydant constitue l'étape suivante. L'intérêt d'une meilleure connaissance des mécanismes liés au stress est de mettre en place des approches thérapeutiques basées sur le conditionnement musculaire, permettant de diminuer le stress oxydant afin de limiter les atteintes mitochondriales et de protéger ainsi la fonction musculaire.

Conclusion générale

La première partie de ce travail nous a permis de mettre en évidence des adaptations spécifiques liées à la modalité d'entraînement à travers la comparaison de deux modes d'entraînements proposant une dépense énergétique et une durée d'entraînement identique. L'entraînement à charge constante améliore les performances aérobies par le développement du réseau capillaire. L'entraînement à charge variable améliore, de manière plus importante, les performances aérobies à travers des adaptations centrales et périphériques. La différence entre ces modalités d'entraînement est la variation de la demande énergétique pendant les séances d'entraînement. Aussi, ces résultats suggèrent que la répétition de perturbations de l'homéostasie cellulaire, liée à l'intensité de l'exercice, semble être un facteur central dans l'amélioration des performances aérobies.

La seconde partie de ce travail met en évidence l'influence de l'entraînement à haute intensité en endurance sur la fonction mitochondriale. Il permet une adaptation quantitative et qualitative des mitochondries du muscle squelettique, en particulier en majorant leur capacité à oxyder les hydrates de carbone.

Ces résultats permettent une meilleure compréhension des mécanismes adaptatifs en réponse à l'entraînement en endurance. Ils favoriseront d'une part l'amélioration de la prescription de l'entraînement en endurance, en ciblant la modalité d'entraînement en fonction des pathologies et, d'autre part, l'amélioration de la qualité de vie des patients atteints de maladies chroniques.

BIBLIOGRAPHIE

- Adam-Vizi V & Chinopoulos C. (2006). Bioenergetics and the formation of mitochondrial reactive oxygen species. *Trends Pharmacol Sci* **27**, 639-645.
- Adolfsson J, Ljungqvist A, Tornling G & Unge G. (1981). Capillary increase in the skeletal muscle of trained young and adult rats. *J Physiol* **310**, 529-532.
- Andersen P & Henriksson J. (1977). Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *J Physiol* **270**, 677-690.
- Andersen P & Saltin B. (1985). Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* **366**, 233-249.
- Anflous K, Blondel O, Bernard A, Khrestchatsky M & Ventura-Clapier R. (1998). Characterization of rat porin isoforms: cloning of a cardiac type-3 variant encoding an additional methionine at its putative N-terminal region. *Biochim Biophys Acta* **1399**, 47-50.
- Ashrafian H, Redwood C, Blair E & Watkins H. (2003). Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion. *Trends Genet* **19**, 263-268.
- Astrand PO. (1973). Physiology of exercise and physical conditioning in normals. *Schweiz Med Wochenschr* **103**, 41-45.
- Astrand PO, Cuddy TE, Saltin B & Stenberg J. (1964). Cardiac Output During Submaximal and Maximal Work. *J Appl Physiol* **19**, 268-274.
- Astrand PO & Rodahl K. (1970). *Textbook of work physiology*. New York.
- Baar K, Wende AR, Jones TE, Marison M, Nolte LA, Chen M, Kelly DP & Holloszy JO. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *Faseb J* **16**, 1879-1886.
- Baecke JAH, Burena J & JE F. (1982). A short questionnaire for measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* **36**, 936-942.
- Baldwin KM, Klinkerfuss GH, Terjung RL, Mole PA & Holloszy JO. (1972). Respiratory capacity of white, red, and intermediate muscle: adaptative response to exercise. *Am J Physiol* **222**, 373-378.
- Bangsbo J, Gibala MJ, Krstrup P, Gonzalez-Alonso J & Saltin B. (2002). Enhanced pyruvate dehydrogenase activity does not affect muscle O₂ uptake at onset of intense exercise in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **282**, R273-280.
- 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.

- Barja G. (1999). Mitochondrial oxygen radical generation and leak: sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity. *J Bioenerg Biomembr* **31**, 347-366.
- Barrientos A, Barros MH, Valnot I, Rotig A, Rustin P & Tzagoloff A. (2002). Cytochrome oxidase in health and disease. *Gene* **286**, 53-63.
- Barstow TJ, Jones AM, Nguyen PH & Casaburi R. (1996). Influence of muscle fiber type and pedal frequency on oxygen uptake kinetics of heavy exercise. *J Appl Physiol* **81**, 1642-1650.
- Barstow TJ, Lamarra N & Whipp BJ. (1990). Modulation of muscle and pulmonary O₂ uptakes by circulatory dynamics during exercise. *J Appl Physiol* **68**, 979-989.
- Barstow TJ & Mole PA. (1987). Simulation of pulmonary O₂ uptake during exercise transients in humans. *J Appl Physiol* **63**, 2253-2261.
- Barstow TJ & Mole PA. (1991). Linear and nonlinear characteristics of oxygen uptake kinetics during heavy exercise. *J Appl Physiol* **71**, 2099-2106.
- Bassett DR, Jr. & Howley ET. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 70-84.
- Beaver WL, Wasserman K & Whipp BJ. (1986). A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* **60**, 2020-2027.
- Beck KC, Randolph LN, Bailey KR, Wood CM, Snyder EM & Johnson BD. (2006). Relationship between cardiac output and oxygen consumption during upright cycle exercise in healthy humans. *J Appl Physiol* **101**, 1474-1480.
- Beere PA, Russell SD, Morey MC, Kitzman DW & Higginbotham MB. (1999). Aerobic exercise training can reverse age-related peripheral circulatory changes in healthy older men. *Circulation* **100**, 1085-1094.
- Belardinelli R, Barstow TJ, Porszasz J & Wasserman K. (1995). Changes in skeletal muscle oxygenation during incremental exercise measured with near infrared spectroscopy. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **70**, 487-492.
- Berger NJ, Tolfrey K, Williams AG & Jones AM. (2006). Influence of continuous and interval training on oxygen uptake on-kinetics. *Med Sci Sports Exerc* **38**, 504-512.
- Bergstrom J. (1979). Muscle-biopsy needles. *Lancet* **1**, 153.
- Bernard S, LeBlanc P, Whittom F, Carrier G, Jobin J, Belleau R & Maltais F. (1998). Peripheral muscle weakness in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* **158**, 629-634.
- Bigard A. (2004). Muscles responses to exercise and recovery. *Science & Sports* **19**, 246-263.

- Billat V, Lepretre PM, Heugas AM, Laurence MH, Salim D & Koralsztein JP. (2003). Training and bioenergetic characteristics in elite male and female Kenyan runners. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 297-304; discussion 305-296.
- Billat V, Renoux JC, Pinoteau J, Petit B & Koralsztein JP. (1994). Times to exhaustion at 100% of velocity at VO₂max and modelling of the time-limit/velocity relationship in elite long-distance runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **69**, 271-273.
- Billat VL, Flechet B, Petit B, Muriaux G & Koralsztein JP. (1999). Interval training at VO₂max: effects on aerobic performance and overtraining markers. *Med Sci Sports Exerc* **31**, 156-163.
- 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.
- Birod OJ, Koulmann N, Peinnequin A & Bigard XA. (2003). Exercise-induced expression of vascular endothelial growth factor mRNA in rat skeletal muscle is dependent on fibre type. *J Physiol* **552**, 213-221.
- Blomqvist CG & Saltin B. (1983). Cardiovascular adaptations to physical training. *Annu Rev Physiol* **45**, 169-189.
- Bonen A, Luiken JJ, Liu S, Dyck DJ, Kiens B, Kristiansen S, Turcotte LP, Van Der Vusse GJ & Glatz JF. (1998). Palmitate transport and fatty acid transporters in red and white muscles. *Am J Physiol* **275**, E471-478.
- Booth FW, Chakravarthy MV & Spangenburg EE. (2002). Exercise and gene expression: physiological regulation of the human genome through physical activity. *J Physiol* **543**, 399-411.
- Booth FW & Thomason DB. (1991). Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. *Physiol Rev* **71**, 541-585.
- Booth FW & Vyas DR. (2001). Genes, environment, and exercise. *Adv Exp Med Biol* **502**, 13-20.
- Borrani 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.
- Borrani 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.
- Bouhuys A, Pool J, Binkhorst RA & van Leeuwen P. (1966). Metabolic acidosis of exercise in healthy males. *J Appl Physiol* **21**, 1040-1046.

- Boveris A, Oshino N & Chance B. (1972). The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J* **128**, 617-630.
- Brand MD. (2000). Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. *Exp Gerontol* **35**, 811-820.
- Brodal P, Ingjer F & Hermansen L. (1977). Capillary supply of skeletal muscle fibers in untrained and endurance-trained men. *Am J Physiol* **232**, H705-712.
- Brooks GA. (1997). Maximal metabolic rate and the balance of substrate utilization in aging. *Am J Physiol* **273**, E655-656.
- Brooks GA & Donovan CM. (1983). Effect of endurance training on glucose kinetics during exercise. *Am J Physiol* **244**, E505-512.
- Brooks GA & Mercier J. (1994). Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept. *J Appl Physiol* **76**, 2253-2261.
- Burke EJ & Franks BD. (1975). Changes in V_{O2}max resulting from bicycle training at different intensities holding total mechanical work constant. *Res Q* **46**, 31-37.
- Burke LM & Hawley JA. (2006). Fat and carbohydrate for exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **9**, 476-481.
- Cadefau J, Green HJ, Cusso R, Ball-Burnett M & Jamieson G. (1994). Coupling of muscle phosphorylation potential to glycolysis during work after short-term training. *J Appl Physiol* **76**, 2586-2593.
- Calbet JA, Jensen-Urstad M, van Hall G, Holmberg HC, Rosdahl H, Saltin B & Gonzalez-Alonso J. (2004). Maximal muscular vascular conductances during whole body upright exercise in humans
Reductions in systemic and skeletal muscle blood flow and oxygen delivery limit maximal aerobic capacity in humans. *J Physiol* **558**, 319-331.
- Capaldi RA. (1990). Structure and assembly of cytochrome c oxidase. *Arch Biochem Biophys* **280**, 252-262.
- Carr HS & Winge DR. (2003). Assembly of cytochrome c oxidase within the mitochondrion. *Acc Chem Res* **36**, 309-316.
- Casaburi R, Barstow TJ, Robinson T & Wasserman K. (1989). Influence of work rate on ventilatory and gas exchange kinetics. *J Appl Physiol* **67**, 547-555.
- Casaburi R, Storer TW, Ben-Dov I & Wasserman K. (1987). Effect of endurance training on possible determinants of VO₂ during heavy exercise. *J Appl Physiol* **62**, 199-207.
- Celli BR & MacNee W. (2004). Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J* **23**, 932-946.

- Cerretelli P. (2002). *Traité de physiologie de l'exercice et du sport*. Paris.
- Cerretelli P, Pendergast D, Paganelli WC & Rennie DW. (1979). Effects of specific muscle training on VO₂ on-response and early blood lactate. *J Appl Physiol* **47**, 761-769.
- Chance B. (1970). Fluorescent probe environment and the structural and charge changes in energy coupling of mitochondrial membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **67**, 560-571.
- 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.
- Chilibeck PD, Paterson DH, Petrella RJ & Cunningham DA. (1996). The influence of age and cardiorespiratory fitness on kinetics of oxygen uptake. *Can J Appl Physiol* **21**, 185-196.
- Chuang ML, Ting H, Otsuka T, Sun XG, Chiu FY, Hansen JE & Wasserman K. (2002). Muscle deoxygenation as related to work rate. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 1614-1623.
- Clifford PS & Hellsten Y. (2004). Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* **97**, 393-403.
- Coggan AR. (1997). The glucose crossover concept is not an important new concept in exercise metabolism. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **24**, 896-900.
- Coggan AR, Kohrt WM, Spina RJ, Bier DM & Holloszy JO. (1990). Endurance training decreases plasma glucose turnover and oxidation during moderate-intensity exercise in men. *J Appl Physiol* **68**, 990-996.
- Coggan AR, Raguso CA, Williams BD, Sidossis LS & Gastaldelli A. (1995). Glucose kinetics during high-intensity exercise in endurance-trained and untrained humans. *J Appl Physiol* **78**, 1203-1207.
- Cohen-Solal A, Logeart D, Guiti C, Dahan M & Gourgon R. (1999). Cardiac and peripheral responses to exercise in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* **20**, 931-945.
- Connor MK, Irrcher I & Hood DA. (2001). Contractile activity-induced transcriptional activation of cytochrome C involves Sp1 and is proportional to mitochondrial ATP synthesis in C2C12 muscle cells. *J Biol Chem* **276**, 15898-15904.
- Cotes JE, Zejda J & King B. (1988). Lung function impairment as a guide to exercise limitation in work-related lung disorders. *Am Rev Respir Dis* **137**, 1089-1093.
- Coyle EF, Coggan AR, Hopper MK & Walters TJ. (1988). Determinants of endurance in well-trained cyclists. *J Appl Physiol* **64**, 2622-2630.

- Cunningham DA, McCrimmon D & Vlach LF. (1979). Cardiovascular response to interval and continuous training in women. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **41**, 187-197.
- Davis JA, Frank MH, Whipp BJ & Wasserman K. (1979). Anaerobic threshold alterations caused by endurance training in middle-aged men. *J Appl Physiol* **46**, 1039-1046.
- 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.
- Degens H, Turek Z, Hoofd LJ, Van't Hof MA & Binkhorst RA. (1992). The relationship between capillarisation and fibre types during compensatory hypertrophy of the plantaris muscle in the rat. *J Anat* **180 (Pt 3)**, 455-463.
- Dempsey JA, Hanson PG & Henderson KS. (1984). Exercise-induced arterial hypoxaemia in healthy human subjects at sea level. *J Physiol* **355**, 161-175.
- Doherty M, Nobbs L & Noakes TD. (2003). Low frequency of the "plateau phenomenon" during maximal exercise in elite British athletes. *Eur J Appl Physiol* **89**, 619-623.
- Drexler H & Coats AJ. (1996). Explaining fatigue in congestive heart failure. *Annu Rev Med* **47**, 241-256.
- Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* **82**, 47-95.
- Duchen MR. (2004). Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med* **25**, 365-451.
- Dudley GA, Tullson PC & Terjung RL. (1987). Influence of mitochondrial content on the sensitivity of respiratory control. *J Biol Chem* **262**, 9109-9114.
- Dufour SP, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Lampert E, Hirth C, Piquard F, Lonsdorfer J, Geny B, Mettauer B & Richard R. (2007). Deciphering the metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **292**, R1641-1648.
- 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.
- Dyck DJ, Peters SJ, Glatz J, Gorski J, Keizer H, Kiens B, Liu S, Richter EA, Spriet LL, van der Vusse GJ & Bonen A. (1997). Functional differences in lipid metabolism in resting skeletal muscle of various fiber types. *Am J Physiol* **272**, E340-351.
- Dzeja PP, Redfield MM, Burnett JC & Terzic A. (2000). Failing energetics in failing hearts. *Curr Cardiol Rep* **2**, 212-217.

- Echtay KS, Roussel D, St-Pierre J, Jekabsons MB, Cadenas S, Stuart JA, Harper JA, Roebuck SJ, Morrison A, Pickering S, Clapham JC & Brand MD. (2002). Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. *Nature* **415**, 96-99.
- Ekblom B & Hermansen L. (1968). Cardiac output in athletes. *J Appl Physiol* **25**, 619-625.
- Endo M, Okada Y, Rossiter HB, Ooue A, Miura A, Koga S & Fukuba Y. (2005). Kinetics of pulmonary VO₂ and femoral artery blood flow and their relationship during repeated bouts of heavy exercise. *Eur J Appl Physiol* **95**, 418-430.
- Essen B, Jansson E, Henriksson J, Taylor AW & Saltin B. (1975). Metabolic characteristics of fibre types in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* **95**, 153-165.
- 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.
- Faulkner JA, Kollias J, Favour CB, Buskirk ER & Balke B. (1968). Maximum aerobic capacity and running performance at altitude. *J Appl Physiol* **24**, 685-691.
- Fernandez-Garcia B, Perez-Landaluce J, Rodriguez-Alonso M & Terrados N. (2000). Intensity of exercise during road race pro-cycling competition. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 1002-1006.
- Fick A. (1870). Uber die messung des blutquantums in den hertzventrikeln. *Verhandlungen der Physikalisch Medizinischen Gesellschaft zu Wurzburg* **2**, 16.
- Finkelhor RS, Hanak LJ & Bahler RC. (1986). Left ventricular filling in endurance-trained subjects. *J Am Coll Cardiol* **8**, 289-293.
- Fitts RH, Nagle FJ & Cassens RG. (1974). The adaptation of myoglobin with age and training and its relationship to the three fiber types of skeletal muscle in miniature pig. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **33**, 275-284.
- 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. (2006). Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *J Exp Biol* **209**, 2239-2248.
- Fluck M & Hoppeler H. (2003). Molecular basis of skeletal muscle plasticity--from gene to form and function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* **146**, 159-216.
- Folkman J & Shing Y. (1992). Angiogenesis. *J Biol Chem* **267**, 10931-10934.

- Freyssenet D. (2007). Energy sensing and regulation of gene expression in skeletal muscle. *J Appl Physiol* **102**, 529-540.
- Gaesser GA & Poole DC. (1996). The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. *Exerc Sport Sci Rev* **24**, 35-71.
- Gaesser GA & Rich RG. (1984). Effects of high- and low-intensity exercise training on aerobic capacity and blood lipids. *Med Sci Sports Exerc* **16**, 269-274.
- 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.
- Geny B, Saini J, Mettauier B, Lampert E, Piquard F, Follenius M, Epailly E, Schnedecker B, Eisenmann B, Haberey P & Lonsdorfer J. (1996). Effect of short-term endurance training on exercise capacity, haemodynamics and atrial natriuretic peptide secretion in heart transplant recipients. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **73**, 259-266.
- Gibala MJ, Little JP, van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, Raha S & Tarnopolsky MA. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J Physiol* **575**, 901-911.
- Gledhill N. (1982). Blood doping and related issues: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* **14**, 183-189.
- Gledhill N. (1985). The influence of altered blood volume and oxygen transport capacity on aerobic performance. *Exerc Sport Sci Rev* **13**, 75-93.
- 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.
- Gnaiger E, Lassnig B, Kuznetsov A, Rieger G & Margreiter R. (1998). Mitochondrial oxygen affinity, respiratory flux control and excess capacity of cytochrome c oxidase. *J Exp Biol* **201**, 1129-1139.
- Goldberg MA & Schneider TJ. (1994). Similarities between the oxygen-sensing mechanisms regulating the expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin. *J Biol Chem* **269**, 4355-4359.
- 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 NC, Kirkton SD, Howlett RA, Britton SL, Koch LG, Wagner HE & Wagner PD. (2006). Continued divergence in VO₂max of rats artificially selected for running endurance is mediated by greater convective blood O₂ delivery. *J Appl Physiol* **101**, 1288-1296.

- Gorostiaga EM, Walter CB, Foster C & Hickson RC. (1991). Uniqueness of interval and continuous training at the same maintained exercise intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **63**, 101-107.
- Gosker HR, Wouters EF, van der Vusse GJ & Schols AM. (2000). Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease and chronic heart failure: underlying mechanisms and therapy perspectives. *Am J Clin Nutr* **71**, 1033-1047.
- Grassi B. (2006). O₂ uptake kinetics in skeletal muscle: why is it so slow? And what does it mean? *Adv Exp Med Biol* **578**, 17-22.
- Grassi B, Gladden LB, Stary CM, Wagner PD & Hogan MC. (1998). Peripheral O₂ diffusion does not affect V(O₂)on-kinetics in isolated insitu canine muscle. *J Appl Physiol* **85**, 1404-1412.
- Grassi B, Hogan MC, Greenhaff PL, Hamann JJ, Kelley KM, Aschenbach WG, Constantin-Teodosiu D & Gladden LB. (2002). Oxygen uptake on-kinetics in dog gastrocnemius in situ following activation of pyruvate dehydrogenase by dichloroacetate. *J Physiol* **538**, 195-207.
- Grassi B, Hogan MC, Kelley KM, Howlett RA & Gladden LB. (2005). Effects of nitric oxide synthase inhibition by L-NAME on oxygen uptake kinetics in isolated canine muscle in situ. *J Physiol* **568**, 1021-1033.
- 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. (1997). Mechanisms of muscle fatigue in intense exercise. *J Sports Sci* **15**, 247-256.
- Grey JY, Connor MK, Gordon JW, Yano M, Mori M & Hood DA. (2000). Tom20-mediated mitochondrial protein import in muscle cells during differentiation. *Am J Physiol Cell Physiol* **279**, C1393-1400.
- Grimby G, Nilsson NJ & Saltin B. (1966). Cardiac output during submaximal and maximal exercise in active middle-aged athletes. *J Appl Physiol* **21**, 1150-1156.
- Hagberg JM, Allen WK, Seals DR, Hurley BF, Ehsani AA & Holloszy JO. (1985). A hemodynamic comparison of young and older endurance athletes during exercise. *J Appl Physiol* **58**, 2041-2046.
- 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.

- Hambrecht R, Niebauer J, Fiehn E, Kalberer B, Offner B, Hauer K, Riede U, Schlierf G, Kubler W & Schuler G. (1995). Physical training in patients with stable chronic heart failure: effects on cardiorespiratory fitness and ultrastructural abnormalities of leg muscles. *J Am Coll Cardiol* **25**, 1239-1249.
- Hansen JE, Sue DY & Wasserman K. (1984). Predicted values for clinical exercise testing. *Am Rev Respir Dis* **129**, S49-55.
- Havemann L, West SJ, Goedecke JH, Macdonald IA, St Clair Gibson A, Noakes TD & Lambert EV. (2006). Fat adaptation followed by carbohydrate loading compromises high-intensity sprint performance. *J Appl Physiol* **100**, 194-202.
- 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.
- Helgerud J. (1994). Maximal oxygen uptake, anaerobic threshold and running economy in women and men with similar performances level in marathons. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **68**, 155-161.
- Helgerud J, Hoydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M, Simonsen T, Helgesen C, Hjorth N, Bach R & Hoff J. (2007). Aerobic high-intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc* **39**, 665-671.
- 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.
- 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.
- Hill AV & Lupton H. (1923). Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. *QJM*, 135-171.
- Hill NS. (2006). Pulmonary rehabilitation. *Proc Am Thorac Soc* **3**, 66-74.
- Hillig T, Krstrup P, Fleming I, Osada T, Saltin B & Hellsten Y. (2003). Cytochrome P450 2C9 plays an important role in the regulation of exercise-induced skeletal muscle blood flow and oxygen uptake in humans. *J Physiol* **546**, 307-314.
- Hochachka PW & Matheson GO. (1992). Regulating ATP turnover rates over broad dynamic work ranges in skeletal muscles. *J Appl Physiol* **73**, 1697-1703.
- Holloszy JO & Coyle EF. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol* **56**, 831-838.

- Holloszy JO, Kohrt WM & Hansen PA. (1998). The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Front Biosci* **3**, D1011-1027.
- 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.
- Hood DA, Irrcher I, Ljubcic V & Joseph AM. (2006). Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *J Exp Biol* **209**, 2265-2275.
- Hoogsteen J, Hoogeveen A, Schaffers H, Wijn PF & van der Wall EE. (2003). Left atrial and ventricular dimensions in highly trained cyclists. *Int J Cardiovasc Imaging* **19**, 211-217.
- 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, Luthi P, Claassen H, Weibel ER & Howald H. (1973). The ultrastructure of the normal human skeletal muscle. A morphometric analysis on untrained men, women and well-trained orienteers. *Pflugers Arch* **344**, 217-232.
- Houston M. (2001). *Biochemistry Primer for Exercise Science*. Human Kinetics.
- Howlett RA, Gonzalez NC, Wagner HE, Fu Z, Britton SL, Koch LG & Wagner PD. (2003). Selected contribution: skeletal muscle capillarity and enzyme activity in rats selectively bred for running endurance. *J Appl Physiol* **94**, 1682-1688.
- Howley ET, Bassett DR, Jr. & Welch HG. (1995). Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc* **27**, 1292-1301.
- Hultman E & Sahlin K. (1980). Acid-base balance during exercise. *Exerc Sport Sci Rev* **8**, 41-128.
- Hurley BF, Hagberg JM, Allen WK, Seals DR, Young JC, Cuddihee RW & Holloszy JO. (1984a). Effect of training on blood lactate levels during submaximal exercise. *J Appl Physiol* **56**, 1260-1264.

- Hurley BF, Seals DR, Ehsani AA, Cartier LJ, Dalsky GP, Hagberg JM & Holloszy JO. (1984b). Effects of high-intensity strength training on cardiovascular function. *Med Sci Sports Exerc* **16**, 483-488.
- Irrcher I, Adhihetty PJ, Joseph AM, Ljubcic V & Hood DA. (2003). Regulation of mitochondrial biogenesis in muscle by endurance exercise. *Sports Med* **33**, 783-793.
- Irrcher I & Hood DA. (2004). Regulation of Egr-1, SRF, and Sp1 mRNA expression in contracting skeletal muscle cells. *J Appl Physiol* **97**, 2207-2213.
- Jackman MR & Willis WT. (1996). Characteristics of mitochondria isolated from type I and type IIb skeletal muscle. *Am J Physiol* **270**, C673-678.
- Jansson E & Kaijser L. (1982). Effect of diet on the utilization of blood-borne and intramuscular substrates during exercise in man. *Acta Physiol Scand* **115**, 19-30.
- Jeukendrup AE, Mensink M, Saris WH & Wagenmakers AJ. (1997). Exogenous glucose oxidation during exercise in endurance-trained and untrained subjects. *J Appl Physiol* **82**, 835-840.
- 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, Wilkerson DP, Koppo K, Wilmschurst S & Campbell IT. (2003). Inhibition of nitric oxide synthase by L-NAME speeds phase II pulmonary $\dot{V}O_2$ kinetics in the transition to moderate-intensity exercise in man. *J Physiol* **552**, 265-272.
- Jones AM, Wilkerson DP, Wilmschurst S & Campbell IT. (2004). Influence of L-NAME on pulmonary O_2 uptake kinetics during heavy-intensity cycle exercise. *J Appl Physiol* **96**, 1033-1038.
- Jones JH, Longworth KE, Lindholm A, Conley KE, Karas RH, Kayar SR & Taylor CR. (1989). Oxygen transport during exercise in large mammals. I. Adaptive variation in oxygen demand. *J Appl Physiol* **67**, 862-870.
- Jorgensen SB, Wojtaszewski JF, Viollet B, Andreelli F, Birk JB, Hellsten Y, Schjerling P, Vaulont S, Neuffer PD, Richter EA & Pilegaard H. (2005). Effects of alpha-AMPK knockout on exercise-induced gene activation in mouse skeletal muscle. *Faseb J* **19**, 1146-1148.
- 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.
- Keith SP, Jacobs I & McLellan TM. (1992). Adaptations to training at the individual anaerobic threshold. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **65**, 316-323.

- 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.
- Kindig CA, Howlett RA, Stary CM, Walsh B & Hogan MC. (2005). Effects of acute creatine kinase inhibition on metabolism and tension development in isolated single myocytes. *J Appl Physiol* **98**, 541-549.
- Kingwell BA, Dart AM, Jennings GL & Korner PI. (1992). Exercise training reduces the sympathetic component of the blood pressure-heart rate baroreflex in man. *Clin Sci (Lond)* **82**, 357-362.
- Kjaer M. (2004). Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* **84**, 649-698.
- Kjaer M, Farrell PA, Christensen NJ & Galbo H. (1986). Increased epinephrine response and inaccurate glucoregulation in exercising athletes. *J Appl Physiol* **61**, 1693-1700.
- Kjellberg S, Rudhe U & Sjöstrand T. (1949). Increase of the amount of hemoglobin and blood volume in connexion with physical training. *Acta Physiol Scand* **19**, 146-151.
- Koppo K, Bouckaert J & Jones AM. (2004). Effects of training status and exercise intensity on phase II VO₂ kinetics. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 225-232.
- Krip B, Gledhill N, Jamnik V & Warburton D. (1997). Effect of alterations in blood volume on cardiac function during maximal exercise. *Med Sci Sports Exerc* **29**, 1469-1476.
- Kristiansen S, Gade J, Wojtaszewski JF, Kiens B & Richter EA. (2000). Glucose uptake is increased in trained vs. untrained muscle during heavy exercise. *J Appl Physiol* **89**, 1151-1158.
- Krustrup P, Soderlund K, 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.
- Lehman JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM & Kelly DP. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *J Clin Invest* **106**, 847-856.
- Leone TC, Lehman JJ, Finck BN, Schaeffer PJ, Wende AR, Boudina S, Courtois M, Wozniak DF, Sambandam N, Bernal-Mizrachi C, Chen Z, Holloszy JO, Medeiros DM, Schmidt RE, Saffitz JE, Abel ED, Semenkovich CF & Kelly DP. (2005). PGC-1alpha deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis. *PLoS Biol* **3**, e101.

- Lesnefsky EJ & Hoppel CL. (2003). Ischemia-reperfusion injury in the aged heart: role of mitochondria. *Arch Biochem Biophys* **420**, 287-297.
- Levine S, Kaiser L, Leferovich J & Tikunov B. (1997). Cellular adaptations in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* **337**, 1799-1806.
- Lewis SF, Nylander E, Gad P & Areskog NH. (1980). Non-autonomic component in bradycardia of endurance trained men at rest and during exercise. *Acta Physiol Scand* **109**, 297-305.
- Leyk D, Essfeld D, Hoffmann U, Wunderlich HG, Baum K & Stegemann J. (1994). Postural effect on cardiac output, oxygen uptake and lactate during cycle exercise of varying intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **68**, 30-35.
- Lezza AM, Pesce V, Cormio A, Fracasso F, Vecchiet J, Felzani G, Cantatore P & Gadaleta MN. (2001). Increased expression of mitochondrial transcription factor A and nuclear respiratory factor-1 in skeletal muscle from aged human subjects. *FEBS Lett* **501**, 74-78.
- Linder D, Freund R & Kadenbach B. (1995). Species-specific expression of cytochrome c oxidase isozymes. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* **112**, 461-469.
- Lindstedt SL, Thomas RG & Leith DE. (1994). Does peak inspiratory flow contribute to setting VO₂max? A test of symmorphosis. *Respir Physiol* **95**, 109-118.
- Linn TC, Pettit FH, Hucho F & Reed LJ. (1969). Alpha-keto acid dehydrogenase complexes. XI. Comparative studies of regulatory properties of the pyruvate dehydrogenase complexes from kidney, heart, and liver mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A* **64**, 227-234.
- Londeree BR. (1997). Effect of training on lactate/ventilatory thresholds: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* **29**, 837-843.
- Lucia A, Hoyos J & Chicharro JL. (2001). Physiology of professional road cycling. *Sports Med* **31**, 325-337.
- 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.
- Mador MJ & Bozkanat E. (2001). Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* **2**, 216-224.
- Magel JR, Foglia GF, McArdle WD, Gutin B, Pechar GS & Katch FI. (1975). Specificity of swim training on maximum oxygen uptake. *J Appl Physiol* **38**, 151-155.
- Mahon AD, Gay JA & Stolen KQ. (1998). Differentiated ratings of perceived exertion at ventilatory threshold in children and adults. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **78**, 115-120.

- Maltais F, Simard AA, Simard C, Jobin J, Desgagnes P & LeBlanc P. (1996). Oxidative capacity of the skeletal muscle and lactic acid kinetics during exercise in normal subjects and in patients with COPD. *Am J Respir Crit Care Med* **153**, 288-293.
- Martinez JA. (2006). Mitochondrial oxidative stress and inflammation: an slalom to obesity and insulin resistance. *J Physiol Biochem* **62**, 303-306.
- Mathieu-Costello O, Suarez RK & Hochachka PW. (1992). Capillary-to-fiber geometry and mitochondrial density in hummingbird flight muscle. *Respir Physiol* **89**, 113-132.
- 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.
- McGuire DK, Levine BD, Williamson JW, Snell PG, Blomqvist CG, Saltin B & Mitchell JH. (2001). A 30-year follow-up of the Dallas Bedrest and Training Study: II. Effect of age on cardiovascular adaptation to exercise training. *Circulation* **104**, 1358-1366.
- McInerney P, Lessard SJ, Burke LM, Coffey VG, Lo Giudice SL, Southgate RJ & Hawley JA. (2005). Failure to repeatedly supercompensate muscle glycogen stores in highly trained men. *Med Sci Sports Exerc* **37**, 404-411.
- Meyer T, Auracher M, Heeg K, Urhausen A & Kindermann W. (2006). Does cumulating endurance training at the weekends impair training effectiveness? *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **13**, 578-584.
- 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.
- Mitchell JH. (1985). Cardiovascular control during exercise: central and reflex neural mechanisms. *Am J Cardiol* **55**, 34D-41D.
- Miura T, Takeuchi T, Sato H, Nishioka N, Terakado S, Fujieda Y & Ibukiyama C. (1998). Skeletal muscle deoxygenation during exercise assessed by near-infrared spectroscopy and its relation to expired gas analysis parameters. *Jpn Circ J* **62**, 649-657.
- Mogensen M & Sahlin K. (2005). Mitochondrial efficiency in rat skeletal muscle: influence of respiration rate, substrate and muscle type. *Acta Physiol Scand* **185**, 229-236.
- 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.

- Mourtzakis M, Gonzalez-Alonso J, Graham TE & Saltin B. (2004). Hemodynamics and O₂ uptake during maximal knee extensor exercise in untrained and trained human quadriceps muscle: effects of hyperoxia. *J Appl Physiol* **97**, 1796-1802.
- 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.
- 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. *Molecular and Cellular Biochemistry* **256/257**, 267-280.
- Nader GA & Esser KA. (2001). Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise. *J Appl Physiol* **90**, 1936-1942.
- Nijtmans LG, Taanman JW, Muijsers AO, Speijer D & Van den Bogert C. (1998). Assembly of cytochrome-c oxidase in cultured human cells. *Eur J Biochem* **254**, 389-394.
- Noakes TD, Myburgh KH, du Plessis J, Lang L, Lambert M, van der Riet C & Schall R. (1991). Metabolic rate, not percent dehydration, predicts rectal temperature in marathon runners. *Med Sci Sports Exerc* **23**, 443-449.
- O'Brien MJ, Viguie CA, Mazzeo RS & Brooks GA. (1993). Carbohydrate dependence during marathon running. *Med Sci Sports Exerc* **25**, 1009-1017.
- Ogawa T, Spina RJ, Martin WH, 3rd, Kohrt WM, Schechtman KB, Holloszy JO & Ehsani AA. (1992). Effects of aging, sex, and physical training on cardiovascular responses to exercise. *Circulation* **86**, 494-503.
- Ojuka EO, Jones TE, Han DH, Chen M & Holloszy JO. (2003). Raising Ca²⁺ in L6 myotubes mimics effects of exercise on mitochondrial biogenesis in muscle. *Faseb J* **17**, 675-681.
- Ovadi J & Saks V. (2004). On the origin of intracellular compartmentation and organized metabolic systems. *Mol Cell Biochem* **256-257**, 5-12.
- Overend TJ, Paterson DH & Cunningham DA. (1992). The effect of interval and continuous training on the aerobic parameters. *Can J Sport Sci* **17**, 129-134.
- Ozcelik O, Ward SA & Whipp BJ. (1999). Effect of altered body CO₂ stores on pulmonary gas exchange dynamics during incremental exercise in humans. *Exp Physiol* **84**, 999-1011.
- Pande SV & Blanchaer MC. (1971). Carbohydrate and fat in energy metabolism of red and white muscle. *Am J Physiol* **220**, 549-553.
- Paterson DH & Whipp BJ. (1991). Asymmetries of oxygen uptake transients at the on- and offset of heavy exercise in humans. *J Physiol* **443**, 575-586.

- Pattwell DM & Jackson MJ. (2004). Contraction-induced oxidants as mediators of adaptation and damage in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* **32**, 14-18.
- Pattwell DM, McArdle A, Morgan JE, Patridge TA & Jackson MJ. (2004). Release of reactive oxygen and nitrogen species from contracting skeletal muscle cells. *Free Radic Biol Med* **37**, 1064-1072.
- Peronnet F & Aguilaniu B. (2006). Lactic acid buffering, nonmetabolic CO₂ and exercise hyperventilation: a critical reappraisal. *Respir Physiol Neurobiol* **150**, 4-18.
- Peronnet F & Thibault G. (1989). Mathematical analysis of running performance and world running records. *J Appl Physiol* **67**, 453-465.
- Peronnet F, Thibault G, Rhodes EC & McKenzie DC. (1987). Correlation between ventilatory threshold and endurance capability in marathon runners. *Med Sci Sports Exerc* **19**, 610-615.
- 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, Scott J, Mourot L & Rouillon JD. (2003). Cardiovascular and oxygen uptake kinetics during sequential heavy cycling exercises. *Can J Appl Physiol* **28**, 283-298.
- Perry CG, Talanian JL, Heigenhauser GJ & Spriet LL. (2007). The effects of training in hyperoxia vs. normoxia on skeletal muscle enzyme activities and exercise performance. *J Appl Physiol* **102**, 1022-1027.
- Perusse L & Bouchard C. (1999). Genotype-environment interaction in human obesity. *Nutr Rev* **57**, S31-37; discussion S37-38.
- Peters SJ. (2003). Regulation of PDH activity and isoform expression: diet and exercise. *Biochem Soc Trans* **31**, 1274-1280.
- Phillips SM, Green HJ, MacDonald MJ & Hughson RL. (1995). Progressive effect of endurance training on VO₂ kinetics at the onset of submaximal exercise. *J Appl Physiol* **79**, 1914-1920.
- Pilegaard H, Ordway GA, Saltin B & Neufer PD. (2000). Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **279**, E806-814.
- Pilegaard H, Saltin B & Neufer PD. (2003). Effect of short-term fasting and refeeding on transcriptional regulation of metabolic genes in human skeletal muscle. *Diabetes* **52**, 657-662.
- Pollock ML, Miller HS, Linnerud AC & Cooper KH. (1975). Frequency of training as a determinant for improvement in cardiovascular function and body composition of middle-aged men. *Arch Phys Med Rehabil* **56**, 141-145.

- Pollock ML, Ward A & Ayres JJ. (1977). Cardiorespiratory fitness: response to differing intensities and durations of training. *Arch Phys Med Rehabil* **58**, 467-473.
- Ponsot E, Dufour SP, Zoll J, Doutrelau S, N'Guessan B, Geny B, Hoppeler H, Lampert E, Mettauer B, Ventura-Clapier R & Richard R. (2006). Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. II. Improvement of mitochondrial properties in skeletal muscle. *J Appl Physiol* **100**, 1249-1257.
- Ponsot E, Zoll J, N'Guessan B, Ribera F, Lampert E, Richard R, Veksler V, Ventura-Clapier R & Mettauer B. (2005). Mitochondrial tissue specificity of substrates utilization in rat cardiac and skeletal muscles. *J Cell Physiol* **203**, 479-486.
- 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, Mathieu-Costello O & West JB. (1989). Capillary tortuosity in rat soleus muscle is not affected by endurance training. *Am J Physiol* **256**, H1110-1116.
- Poole DC, Schaffartzik W, Knight DR, Derion T, Kennedy B, Guy HJ, Prediletto R & Wagner PD. (1991). Contribution of exercising 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.
- Prior BM, Yang HT & Terjung RL. (2004). What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol* **97**, 1119-1128.
- 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.
- Puhan MA, Schunemann HJ, Frey M, Scharplatz M & Bachmann LM. (2005). How should COPD patients exercise during respiratory rehabilitation? Comparison of exercise modalities and intensities to treat skeletal muscle dysfunction. *Thorax* **60**, 367-375.
- Putman CT, Kiricsi M, Pearcey J, MacLean IM, Bamford JA, Murdoch GK, Dixon WT & Pette D. (2003). AMPK activation increases uncoupling protein-3 expression and mitochondrial enzyme activities in rat muscle without fibre type transitions. *J Physiol* **551**, 169-178.
- Quigley AF, Kapsa RM, Esmore D, Hale G & Byrne E. (2000). Mitochondrial respiratory chain activity in idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Card Fail* **6**, 47-55.
- Rasmussen UF, Rasmussen HN, Krstrup P, Quistorff B, Saltin B & Bangsbo J. (2001). Aerobic metabolism of human quadriceps muscle: in vivo data parallel measurements on isolated mitochondria. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**, E301-307.

- Rauch HG, St Clair Gibson A, Lambert EV & Noakes TD. (2005). A signalling role for muscle glycogen in the regulation of pace during prolonged exercise. *Br J Sports Med* **39**, 34-38.
- Reinhard U, Muller PH & Schmulling RM. (1979). Determination of anaerobic threshold by the ventilation equivalent in normal individuals. *Respiration* **38**, 36-42.
- Richard R, Lonsdorfer-Wolf E, Charloux A, Doutreleau S, Buchheit M, Oswald-Mammosser M, Lampert E, Mettauer B, Geny B & Lonsdorfer J. (2001). Non-invasive cardiac output evaluation during a maximal progressive exercise test, using a new impedance cardiograph device. *Eur J Appl Physiol* **85**, 202-207.
- 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, Grassi B, Gavin TP, Haseler LJ, Tagore K, Roca J & Wagner PD. (1999). Evidence of O₂ supply-dependent VO₂ max in the exercise-trained human quadriceps. *J Appl Physiol* **86**, 1048-1053.
- Richardson RS, Knight DR, Poole DC, Kurdak SS, Hogan MC, Grassi B & Wagner PD. (1995). Determinants of maximal exercise VO₂ during single leg knee-extensor exercise in humans. *Am J Physiol* **268**, H1453-1461.
- Richardson RS, Newcomer SC & Noyszewski EA. (2001). Skeletal muscle intracellular PO₂ assessed by myoglobin desaturation: response to graded exercise. *J Appl Physiol* **91**, 2679-2685.
- Roberts TJ, Weber JM, Hoppeler H, Weibel ER & Taylor CR. (1996). Design of the oxygen and substrate pathways. II. Defining the upper limits of carbohydrate and fat oxidation. *J Exp Biol* **199**, 1651-1658.
- Robinson S. (1938). Experimental studies of physical fitness in relation to age. *Arbeitsphysiologie*, 251-323.
- Rognmo O, Hetland E, Helgerud J, Hoff J & Slordahl SA. (2004). High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **11**, 216-222.
- Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E & Wolfe RR. (1993). Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* **265**, E380-391.
- Rossignol R, Letellier T, Malgat M, Rocher C & Mazat JP. (2000). Tissue variation in the control of oxidative phosphorylation: implication for mitochondrial diseases. *Biochem J* **347 Pt 1**, 45-53.

- 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, 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.
- Rowell LB. (1974). Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress. *Physiol Rev* **54**, 75-159.
- Rowland T, Garrison A & Delulio A. (2003). Circulatory responses to progressive exercise: insights from positional differences. *Int J Sports Med* **24**, 512-517.
- Rusko HK. (1992). Development of aerobic power in relation to age and training in cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc* **24**, 1040-1047.
- Sakamoto K, Hirshman MF, Aschenbach WG & Goodyear LJ. (2002). Contraction regulation of Akt in rat skeletal muscle. *J Biol Chem* **277**, 11910-11917.
- Saks VA, Kongas O, Vendelin M & Kay L. (2000). Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta Physiol Scand* **168**, 635-641.
- 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.
- Saltin B. (1990). Maximal oxygen uptake: limitations and malleability. ed. Nazar K & Terjung RL, pp. pp. 26-40. Human Kinetics.
- Saltin B & Calbet JA. (2006). Point: in health and in a normoxic environment, VO₂ max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *J Appl Physiol* **100**, 744-745.
- 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 & Stenberg J. (1964). Circulatory Response to Prolonged Severe Exercise. *J Appl Physiol* **19**, 833-838.
- Sato Y, Asoh T, Honda Y, Fujimatsu Y, Higuchi I & Oizumi K. (1997). Morphologic and histochemical evaluation of muscle in patients with chronic pulmonary emphysema manifesting generalized emaciation. *Eur Neurol* **37**, 116-121.
- 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.

- Seals DR, Hagberg JM, Hurley BF, Ehsani AA & Holloszy JO. (1984). Endurance training in older men and women. I. Cardiovascular responses to exercise. *J Appl Physiol* **57**, 1024-1029.
- Seiler KS & Kjerland GO. (2006). Quantifying training intensity distribution in elite endurance athletes: is there evidence for an "optimal" distribution? *Scand J Med Sci Sports* **16**, 49-56.
- Severinghaus JW. (1994). Exercise O₂ transport model assuming zero cytochrome PO₂ at VO₂ max. *J Appl Physiol* **77**, 671-678.
- Shephard RJ. (1968). Intensity, duration and frequency of exercise as determinants of the response to a training regime. *Int Z Angew Physiol* **26**, 272-278.
- 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.
- Sidossis LS, Gastaldelli A, Klein S & Wolfe RR. (1997). Regulation of plasma fatty acid oxidation during low- and high-intensity exercise. *Am J Physiol* **272**, E1065-1070.
- Sparling PB & Cureton KJ. (1983). Biological determinants of the sex difference in 12-min run performance. *Med Sci Sports Exerc* **15**, 218-223.
- Spina RJ, Ogawa T, Miller TR, Kohrt WM & Ehsani AA. (1993). Effect of exercise training on left ventricular performance in older women free of cardiopulmonary disease. *Am J Cardiol* **71**, 99-104.
- St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jager S, Handschin C, Zheng K, Lin J, Yang W, Simon DK, Bachoo R & Spiegelman BM. (2006). Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell* **127**, 397-408.
- Stellingwerff T, Spriet LL, Watt MJ, Kimber NE, Hargreaves M, Hawley JA & Burke LM. (2006). Decreased PDH activation and glycogenolysis during exercise following fat adaptation with carbohydrate restoration. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **290**, E380-388.
- Stock D, Leslie AG & Walker JE. (1999). Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase. *Science* **286**, 1700-1705.
- Stolarek I, Scott PJ & Caird FI. (1991). Physiological changes due to age. Implications for cardiovascular drug therapy. *Drugs Aging* **1**, 467-476.
- Stratton JR, Levy WC, Cerqueira MD, Schwartz RS & Abrass IB. (1994). Cardiovascular responses to exercise. Effects of aging and exercise training in healthy men. *Circulation* **89**, 1648-1655.

- 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, Stringer W, Casaburi R, Porszasz J, Maehara K & French W. (1997). Cardiac output estimated noninvasively from oxygen uptake during exercise
Lactic acidosis as a facilitator of oxyhemoglobin dissociation during exercise. *J Appl Physiol* **82**, 908-912.
- Sullivan MJ, Cobb FR & Higginbotham MB. (1991). Stroke volume increases by similar mechanisms during upright exercise in normal men and women. *Am J Cardiol* **67**, 1405-1412.
- Sullivan MJ, Higginbotham MB & Cobb FR. (1988). Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction. Hemodynamic and metabolic effects. *Circulation* **78**, 506-515.
- Talmadge RJ. (2000). Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms. *Muscle Nerve* **23**, 661-679.
- Taylor CR, Karas RH, Weibel ER & Hoppeler H. (1987). Adaptive variation in the mammalian respiratory system in relation to energetic demand. *Respir Physiol* **69**, 1-127.
- Taylor CR & Weibel ER. (1991). Learning from comparative physiology. pp. pp. 1595-1607. Raven Press, New York.
- Taylor HL, Buskirk E & Henschel A. (1955). Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance. *J Appl Physiol* **8**, 73-80.
- Taylor RW & Turnbull DM. (2005). Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* **6**, 389-402.
- Tesch PA. (1985). Exercise performance and beta-blockade. *Sports Med* **2**, 389-412.
- Thomas TR, Adeniran SB & Etheridge GL. (1984). Effects of different running programs on VO₂ max, percent fat, and plasma lipids. *Can J Appl Sport Sci* **9**, 55-62.
- Timmons JA, Poucher SM, Constantin-Teodosiu D, Macdonald IA & Greenhaff PL. (1998). Regulation of skeletal muscle carbohydrate oxidation during steady-state contraction. *Am J Physiol* **274**, R1384-1389.
- Tokmakidis SP, Leger LA & Piliandis TC. (1998). Failure to obtain a unique threshold on the blood lactate concentration curve during exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **77**, 333-342.
- Toth MJ, Gardner AW, Ades PA & Poehlman ET. (1994). Contribution of body composition and physical activity to age-related decline in peak VO₂ in men and women. *J Appl Physiol* **77**, 647-652.

- Turrens JF. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* **552**, 335-344.
- Turrens JF, Alexandre A & Lehninger AL. (1985). Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* **237**, 408-414.
- Vanfraechem JH. (1979). Stroke volume and systolic time interval adjustments during bicycle exercise. *J Appl Physiol* **46**, 588-592.
- 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. (2005a). Non-linear relationships between central cardiovascular variables and VO₂ during incremental cycling exercise in endurance-trained individuals. *J Sports Med Phys Fitness* **45**, 452-459.
- Vella CA & Robergs RA. (2005b). A review of the stroke volume response to upright exercise in healthy subjects. *Br J Sports Med* **39**, 190-195.
- Venables MC, Achten J & Jeukendrup AE. (2005). Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. *J Appl Physiol* **98**, 160-167.
- 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-Clapier R, De Sousa E & Veksler V. (2002). Metabolic myopathy in heart failure. *News Physiol Sci* **17**, 191-196.
- Ventura-Clapier R, Garnier A & Veksler V. (2004). Energy metabolism in heart failure. *J Physiol* **555**, 1-13.
- Ventura-Clapier R, Mettauer B & Bigard X. (2007). Beneficial effects of endurance training on cardiac and skeletal muscle energy metabolism in heart failure. *Cardiovasc Res* **73**, 10-18.
- Wagner PD. (1996). A theoretical analysis of factors determining VO₂ MAX at sea level and altitude. *Respir Physiol* **106**, 329-343.
- Wagner PD. (2006). Counterpoint: in health and in normoxic environment VO₂max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow. *J Appl Physiol* **100**, 745-747; discussion 747-748.
- Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K & Eppenberger HM. (1992). 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** (Pt 1), 21-40.
- Warburton DE, Haykowsky MJ, Quinney HA, Blackmore D, Teo KK, Taylor DA, McGavock J & Humen DP. (2004). Blood volume expansion and cardiorespiratory function: effects of training modality. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 991-1000.
- Wasserman K. (1982). Dyspnea on exertion. Is it the heart or the lungs? *Jama* **248**, 2039-2043.
- 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 & Whipp BJ. (1986). *Principles of exercise testing and interpretation*. Lea & Febiger.
- Wasserman K & Whipp BJ. (1975). Exercise physiology in health and disease. *Am Rev Respir Dis* **112**, 219-249.
- Wasserman K, Whipp BJ, Koysl SN & Beaver WL. (1973). Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* **35**, 236-243.
- Weber JM, Brichon G, Zwingelstein G, McClelland G, Saucedo C, Weibel ER & Taylor CR. (1996). Design of the oxygen and substrate pathways. IV. Partitioning energy provision from fatty acids. *J Exp Biol* **199**, 1667-1674.
- Weibel ER, Taylor CR & Hoppeler H. (1991). The concept of symmorphosis: a testable hypothesis of structure-function relationship. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**, 10357-10361.
- Wenger HA & Bell GJ. (1986). The interactions of intensity, frequency and duration of exercise training in altering cardiorespiratory fitness. *Sports Med* **3**, 346-356.
- Whipp BJ. (1987). Dynamics of pulmonary gas exchange. *Circulation* **76**, VI18-28.
- Whipp BJ, Ward SA, Lamarra N, Davis JA & Wasserman K. (1982). Parameters of ventilatory and gas exchange dynamics during exercise. *J Appl Physiol* **52**, 1506-1513.
- 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.
- Wiesner RJ, Ruegg JC & Morano I. (1992). Counting target molecules by exponential polymerase chain reaction: copy number of mitochondrial DNA in rat tissues. *Biochem Biophys Res Commun* **183**, 553-559.

- Wilkerson DP, Campbell IT & Jones AM. (2004). Influence of nitric oxide synthase inhibition on pulmonary O₂ uptake kinetics during supra-maximal exercise in humans. *J Physiol* **561**, 623-635.
- Williams C & Nute ML. (1983). Some physiological demands of a half-marathon race on recreational runners. *Br J Sports Med* **17**, 152-161.
- Wilmore JH & Costill DL. (1999). Physiology of Sport and Exercise pp. 224-230. Human Kinetics, Champaign, IL.
- Wilson L, Yang Q, Szustakowski JD, Gullicksen PS & Halse R. (2007). Pyruvate induces mitochondrial biogenesis by a PGC-1 alpha-independent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* **292**, C1599-1605.
- 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.
- Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, Troy A, Cinti S, Lowell B, Scarpulla RC & Spiegelman BM. (1999). Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* **98**, 115-124.
- Xu X, Decker W, Sampson MJ, Craigen WJ & Colombini M. (1999). Mouse VDAC isoforms expressed in yeast: channel properties and their roles in mitochondrial outer membrane permeability. *J Membr Biol* **170**, 89-102.
- 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.
- Zavorsky GS. (2000). Evidence and possible mechanisms of altered maximum heart rate with endurance training and tapering. *Sports Med* **29**, 13-26.
- Zeviani M & Di Donato S. (2004). Mitochondrial disorders. *Brain* **127**, 2153-2172.
- 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.
- Zorov DB, Juhaszova M & Sollott SJ. (2006). Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim Biophys Acta* **1757**, 509-517.