

Effets métaboliques et physiologiques d'un entraînement en accélération chez la souris âgée et effets de l'âge sur les capacités physiques de la souris déficiente à la créatine kinase.

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'Université d'Evry Val d'Essonne

École doctorale n°577 Structure et Dynamique des Systèmes Vivants
(SDSV)
Spécialité de doctorat : Sciences de la vie et de la santé

Thèse présentée et soutenue à Evry, le 26 septembre 2017, par

Romain NIEL

Composition du Jury :

Vladimir VEKSLER Professeur, Université Paris-Saclay (Paris-Sud)	Président du jury
Laurence STEVENS Professeure, Université Lille 1	Rapporteur
Philippe NOIREZ MCF, Université Sorbonne-Paris-Cité (Paris 5)	Rapporteur
Thierry LAUNAY MCF, Université Sorbonne-Paris-Cité (Paris 5)	Examineur
Véronique BILLAT Professeur, Université Paris-Saclay (Evry Val d'Essonne)	Directeur de thèse
Iman MOMKEN MCF, Université Paris-Saclay (Evry Val d'Essonne)	Co-Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

*Avant tout, je souhaite vivement remercier le Pr. **Laurence Stevens** et le Dr. **Philippe Noirez** pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail, ainsi que le Pr. **Vladimir Veksler** et le Dr. **Thierry Launay** pour leur rôle d'examineur.*

*Je tiens également à remercier les membres de mon comité de thèse, le Dr. **Audrey Bergouignan** et le Dr. **Vanessa Jahnke**, bien que vous ne puissiez être présents pour ma soutenance, merci de m'avoir accordé votre temps, que ce soit pour des questions professionnelles ou personnelles.*

*Un grand merci à ma directrice, le Pr. **Véronique Billat**, pour son accueil au sein du laboratoire, pour m'avoir fait confiance dans la réalisation de ce projet et sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. Votre vision innovante dans les domaines du sport, de la performance et de la santé, ainsi que vos conseils ont toujours été indispensables et décisifs.*

*Mes plus vifs remerciements pour le Dr. **Iman Momken**, mon superviseur et ma co-directrice de thèse qui a toujours été disponible pour moi, qui a énormément contribué à mon apprentissage et qui a toujours tout mis en œuvre pour la réussite de ce travail. Merci du fond du cœur, Iman.*

Puisque la recherche ne se fait jamais seul, un grand remerciement à tous les membres du laboratoire :

*Le Dr. **Laurence Hamard**, j'ai eu l'occasion de commencer dans le milieu de la recherche avec vous en Master et cela m'a donné l'envie de continuer dans cette voie. Votre patience et vos conseils avisés concernant toutes sortes de sujets, ont toujours été d'un grand secours, merci pour tout.*

*Le Pr. **Laurence Le Moyec**, cela a été un réel plaisir d'apprendre avec vous la métabolomique (et non la métabolomie... cette erreur ne vous écorchera plus les tympans !). Grâce à vous j'ai pu acquérir, en peu de temps, une bien meilleure compréhension dans un domaine qui m'était étranger et cela, toujours dans la bonne humeur, merci. Je ne peux me permettre d'oublier **Margaux Luck** qui a également eu beaucoup de patience avec moi lors de cet apprentissage et avec qui j'ai beaucoup échangé, merci.*

*Le Dr. **Sophie Besse** et le Dr. **Thierry Launay**, merci pour votre partage de connaissances et vos conseils toujours pertinents. Merci également pour l'initiation à la manipulation des rats dont je me méfiais à tort. Votre expérience et votre franc-parler m'ont énormément permis d'apprendre.*

Mohamed Ayachi, plus qu'un collègue, tu es devenu un ami, on a partagé toutes ces années de thèse avec des hauts et des bas, mais on y est finalement arrivés, à cette dernière ligne droite ! Félicitations à toi pour ton travail acharné, pour nos deux articles en commun et pour ton deuxième petit bébé qui arrive (et je ne parle d'article !). Tu as de l'ambition, garde-la ! Que du bonheur pour toi et ta famille.

Mohamed Younes, tu as fini ta thèse bien avant nous, mais on a pu partager quelques années ensemble ainsi que des discussions allant du divertissement à la religion, ce fut un plaisir.

Un merci à toutes les stagiaires qui ont croisé ma route dans cette salle de « bio mol » et avec qui nous avons partagé de durs labeurs. Je pense notamment à **Elisa Drouet**, les chansons de Kyo ne sont plus un mystère pour nous, ainsi qu'à **Estelle Annibal**, je sais ce que tu as vécu avec toutes ces manips d'activités enzymatiques. C'est un plaisir de voir que nous sommes toujours en contact.

Et puisqu'un laboratoire ne travaille jamais seul non plus, je tiens à remercier tous nos collaborateurs et notamment le Pr. **Philippe Savarin**, le Dr. **Marie-Jeanne Clement** et **Oleg Maciejak** pour leur aide indispensable lors des manipulations RMN. Mais encore le **laboratoire de chimie** de notre 3^{ème} étage pour nos demandes incessantes d'azote liquide, toujours acceptées avec le sourire.

Je tiens également à remercier les différentes animaleries du **CERFE** au Bras-de-Fer et de **l'INRA** à Jouy-en-Josas et leurs équipes avec lesquelles j'ai eu le plaisir de travailler et de passer de longs moments. Je pense notamment au CERFE, ma résidence secondaire pendant plus d'un an.

Dans un tout autre domaine je tiens à remercier tous ceux qui ont été là pendant cette expérience de vie, depuis toujours ou depuis peu, et qui m'ont permis de me changer les idées (un peu trop me direz-vous ?) mais aussi de passer les étapes difficiles. Je pense évidemment à mes amis : **Chim, Camille, JQ, Popo et Max, Géraldine, Alisson, Sylvain et Idan, Coralie, Julie B., Emme et Jojo, Vince et Michelle, Marco, JB, Quentin et Célia, Dams, Jonny Boy, Robi, Cassandra, Dim et Laurie, Jérémy, Cindy, Julie M., Zbirk, Chotard, Claire, Trapu** et plus récemment, grâce à la « Réunion lé la » : **Thomas et Julie, Andréa, Wiwi, Maryne, Lucie, Eric** et bien sûr, un grand merci à la meilleure des coloc **Clem** qui m'a nourri et supporté pendant toute cette fin de thèse.

Tu as partagé 6 ans de ma vie et tu es l'exemple même que l'effort mène à la réussite. Bien que nos chemins se soient séparés, je te remercie **Auréli**, toi et tes parents, **Sylvie et Thierry**, d'avoir toujours été là pour me soutenir et bien plus encore.

A ma famille, il est difficile d'exprimer ma gratitude en si peu de mots. A **Jean**, j'ai toujours pu compter sur toi en toutes circonstances et tes repas sont toujours un bienfait pour les papilles, merci à toi et à

tes parents **Emma** et **Ismeno**, que j'ai toujours plaisir à voir. A **Christine**, merci pour le temps que tu as pris pour les corrections de cette thèse et pour tout le reste. A **mes grands-parents**, certes loin des yeux, mais jamais loin d'un appel réconfortant, merci. A mes petits frères et sœurs **Laura, Ptinus, Solène, Marion, Anaïs**, vous m'en avez fait baver mais vous avez aussi changé ma vie d'enfant unique et que ça fait du bien de vous avoir comme famille ! A toi **maman**, tu m'as appris ce qu'était l'optimisme et la joie de vivre. Tu m'as toujours soutenu et fait confiance, merci pour tout. Enfin, une mention spéciale à mon père, malgré la distance et les tristes difficultés auxquelles tu as dû faire face, tu as toujours été un père exemplaire, présent à tout moment de ma vie, tu m'as sauvé de toutes les situations et tu es encore et toujours là, prêt à te donner un mal fou pour la réussite de tes enfants. Je ne te le dis pas assez, alors : merci infiniment **papa**.

Merci à vous tous !

RESUME

La quête de l'augmentation de l'espérance de vie chez l'homme inspire depuis longtemps les travaux de recherche, en particulier en biologie. Au-delà de la notion de mortalité, celles de la morbidité et de l'espérance de vie active et indépendante sont aujourd'hui au centre des enjeux de santé publique. En effet, la perte d'autonomie chez les personnes âgées nous oriente vers un objectif d'amélioration de l'espérance de vie en bonne santé. L'activité physique est un facteur fondamental du bien-être de l'individu, impactant aussi bien les performances physiques que les diverses pathologies (diabète, pathologies cardiaques). Chez la population âgée, la nécessité d'obtenir des résultats rapides, sans souffrance ni longs entraînements nous a mené à notre première étude. Celle-ci a porté sur l'application d'un nouveau protocole d'entraînement à court terme utilisant l'accélération chez les souris âgées. Les résultats obtenus nous ont montré une amélioration des performances physiques et de l'ensemble des métabolismes énergétiques, tout en étant plus efficient qu'un entraînement en endurance et plus adapté qu'un entraînement en intervalles. De plus, devant l'intérêt récent que suscitent les transferts énergétiques dans la régulation des métabolismes énergétiques et dans le processus du vieillissement, nous nous sommes intéressés à la compréhension des mécanismes des flux énergétiques, et notamment à celui faisant intervenir la créatine kinase mitochondriale. Notre seconde étude a ainsi analysé les capacités physiques et physiologiques de souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale de 6 à 18 mois. Nos résultats suggèrent une utilisation majoritaire du métabolisme lipidique et un maintien des capacités physiques chez ces souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale. La compréhension des mécanismes du flux énergétique et de leur importance sur les capacités physiques au cours du vieillissement permettrait de mieux concevoir les futurs protocoles d'entraînement, tel que l'entraînement en accélération nous ouvrant de nouvelles perspectives dans l'amélioration des capacités physiques et de l'autonomie au cours du vieillissement.

Mots clés : vieillissement, entraînement, accélération, métabolismes énergétiques, flux énergétiques, créatine kinase

ABSTRACT

For a long time, the increase in life expectancy in humans inspires research, especially in biology. Beyond the notion of mortality, those of morbidity and active and independent life expectancy are at the center of public health issues. However, faced with the decrease in physical capacity and the increase in the number of diseases during aging, interest is now focused on improving the quality of life. Indeed, the loss of autonomy in the elderly directs us towards a goal of improving the healthspan. Physical activity is a fundamental factor in the well-being, impacting physical performance as well as different pathologies (diabetes, cardiac pathologies). In the elderly population, the necessity to reach fast results, without suffering or long time training led to our first study. This one focused on a new model of short acceleration-based training protocol in elderly mice. The results showed an improvement in physical performance and in the whole of the energetic metabolisms, while being more efficient than endurance training and more suitable than interval training. Moreover, given the recent interest in energy transfers in the regulation of energetic metabolisms and in the aging process, we were interested in understanding the mechanisms of energy flux and in particular the one involving mitochondrial creatine kinase. Our second study analyzed the physical and physiological capacity of mitochondrial creatine kinase deficient mice from 6 to 18 months. Our results suggest a predominant lipid metabolism and showed a conservation of physical abilities in these mitochondrial creatine kinase deficient mice. Knowledge of the mechanisms of energy flux and their importance to physical capacities during aging would lead to better design future training protocols, such as our acceleration training, which opens new perspectives in improvement of physical capacity and autonomy during aging.

Keywords: aging, training, acceleration, energetic metabolism, energy flux, creatine kinase

TABLE DES MATIERES :

REMERCIEMENTS.....	3
RESUME / ABSTRACT	6
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES PUBLICATIONS	12
LISTE DES FIGURES	13
LISTE DES TABLEAUX	15
ABREVIATIONS	16
PREAMBULE.....	18

ETAT DE L'ART :

Effet du vieillissement sur l'organisme :	21
I. SYSTEMES MUSCULAIRE SQUELETTIQUE, CARDIO-RESPIRATOIRE ET VIEILLISSEMENT	21
A. Système musculaire squelettique	22
1. Structure.....	22
2. Propriétés et fonctionnement du muscle squelettique	23
3. Plasticité et force musculaire avec l'âge	28
4. Muscles squelettiques et exercice	29
B. Système cardio-respiratoire	32
1. Le cœur et sa fonction.....	32
2. Le système respiratoire et sa fonction	34
3. Effet de l'âge sur le système cardio-respiratoire	36
4. Effet de l'activité physique sur le système cardio-respiratoire.....	39
II. LES DIFFERENTS METABOLISMES ENERGETIQUES.....	42
A. Métabolisme anaérobie alactique	42
B. Métabolisme anaérobie lactique	43
1. Généralités	43
2. Formation et utilisation du lactate.....	45
C. Métabolisme aérobie	47
1. La mitochondrie	47
2. Glycolyse aérobie et mécanismes mitochondriaux.....	49
3. Substrats lipidiques du métabolisme aérobie.....	54

4.	Substrats protéiques du métabolisme aérobie	56
D.	Schéma synthèse	58
E.	Relations entre les différents métabolismes.....	59
1.	Navette PCr/CK.....	59
2.	Navette AK.....	59
3.	Régulation de la glycolyse et interaction avec l'oxydation lipidique	62
F.	Effet du vieillissement sur les différents métabolismes énergétiques	64
1.	Métabolisme aérobie et dysfonction mitochondriale avec l'âge.....	64
2.	Effet de l'âge sur le métabolisme glycolytique	70
3.	Effet de l'âge sur le métabolisme anaérobie alactique.....	73
III.	L'EXERCICE PHYSIQUE ET SES EFFETS SUR LE PROCESSUS DE VIEILLISSEMENT	76
A.	Les entraînements de type endurance.....	76
1.	Définition	76
2.	Effets des entraînements en endurance sur l'organisme vieillissant.....	78
3.	Limites de l'entraînement en endurance	81
B.	Les entraînements en force.....	82
1.	Définition	82
2.	Effet des entraînements en résistance/force sur l'organisme vieillissant	83
3.	Limites des entraînements en résistance/force.....	86
C.	L'entraînement en accélération, une hypothèse	87
1.	Principes et avantages de l'entraînement.....	87
	PREMIERE ETUDE :	90
I.	EVALUATION D'UN NOUVEAU PROTOCOLE D'ENTRAINEMENT A COURT TERME :	
	L'ACCELERATION (Article 1).	91
A.	Contexte	91
B.	Méthodologie	91
1.	Les animaux : caractéristiques	91
2.	Les protocoles d'entraînement : accélération et endurance	92
3.	Evaluation de la performance	94
4.	Méthode de sacrifice : prélèvements musculaires et urinaires	95
5.	Respiration mitochondriale.....	95
6.	Activité enzymatique (CK, AK, CS, LDH).....	96
7.	Analyse du métabolome urinaire	97
8.	Analyses statistiques	99
C.	Résultats.....	100

1.	Données anthropométriques	100
2.	Travail réalisé pour les différents entraînements	101
3.	Performance et consommation maximale d'oxygène	102
4.	Concentration de la lactatémie	106
5.	Activités enzymatiques.....	106
6.	Respiration mitochondriale.....	107
7.	Analyses métabolomiques	109
D.	Discussion.....	111
1.	Protocole et performance	111
2.	Métabolisme anaérobie	112
3.	Métabolisme aérobie	113
4.	ROS et capacité antioxydante	114
5.	Complément des analyses métabolomiques	115
E.	Conclusion et perspectives de la première étude.....	116
	DEUXIEME ETUDE.....	118
	II. EVOLUTION DES CAPACITES PHYSIQUES ET PHYSIOLOGIQUES AVEC L'AGE CHEZ LA SOURIS	
	miCK-KO	119
A.	Contexte	119
B.	Méthodologie	123
1.	Elevage et reproduction des souris miCK.....	123
2.	Familiarisation et évaluation de la performance	124
3.	Analyses respiratoires :	126
4.	Méthode de sacrifice : prélèvements musculaires et urinaires	126
5.	Analyses statistiques	127
C.	Résultats.....	127
1.	Données anatomiques.....	127
2.	Performances	129
3.	Consommation maximale d'oxygène (VO_{2max})	131
4.	Lactatémie	135
5.	Discussion	137
6.	Conclusion et perspectives.....	142
	III. DISCUSSION GENERALE	143
	IV. PERSPECTIVES.....	145
	REFERENCES.....	147
	ANNEXES	179

Protocole d'homogénéisation des tissus.....	180
Protocole de mesure de l'activité enzymatique de la CS	181
Protocole de mesure de l'activité enzymatique de la LDH	183
Protocole de mesure de l'activité enzymatique de la CK et de l'AK	185
Protocole de génotypage des souris miCK	187
ARTICLES PUBLIES.....	189
1. Article 1 : Niel R. et al. 2016. « A new model of short acceleration-based training improves exercise performance in old mice. »	190
2. Article 2 : Ayachi M. et al. 2016. "Validation of a Ramp Running Protocol for determination of the True VO2max in Mice."	203
3. Article 3 : Launay T. et al. 2017. "Acceleration-based training : A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions."	211

LISTE DES PUBLICATIONS

PUBLIEES et faisant l'objet de cette thèse :

Niel, R., Ayachi, M., Mille-Hamard, L., Le Moyec, L., Savarin, P., Clement, M.-J., Besse, S., Launay, T., Billat, V.L., Momken, I. (2016). **A new model of short acceleration-based training improves exercise performance in old mice.** *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*.
<https://doi.org/10.1111/sms.12809>

EN COURS DE SOUMISSION et faisant l'objet de cette thèse :

Niel, R., Ayachi, M., Le Moyec, L.,... Momken, I. **Evolution des capacités physiques et physiologiques avec l'âge chez la souris miCK-KO.**

PUBLIEES et en lien avec cette thèse :

Ayachi, M., Niel, R., Momken, I., Billat, V. L., & Mille-Hamard, L. (2016). **Validation of a Ramp Running Protocol for Determination of the True VO_{2max} in Mice.** *Frontiers in Physiology*, 7, 372.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00372>

Launay, T., Momken, I., Carreira, S., Mougenot, N., Zhou, X.-L., De Koning, L., Niel, R., Riou, B., Billat, V., Besse, S. (2017). **Acceleration-based training: A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions.** *Experimental Gerontology*.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.05.002>

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 :** Structure des fibres musculaires squelettiques (p.22)
- Figure 2 :** Structure des myofibrilles (p.23)
- Figure 3 :** Schéma d'une stimulation musculaire de la plaque motrice aux myofibrilles (p.25)
- Figure 4 :** Effets des entraînements en résistance ou en endurance sur les voies de signalisation de la synthèse protéique et de la biogénèse mitochondriale (p.31)
- Figure 5 :** Cinétique d'évolution du VO_{2max} avec l'âge (p.38)
- Figure 6 :** Déclin du VO_{2max} chez des sujets entraînés, actifs ou sédentaires avec l'âge (p.41)
- Figure 7 :** Courbes des filières énergétiques (p.42)
- Figure 8.1 :** Bilan énergétique de la glycolyse à partir du glucose et du glycogène (p.44)
- Figure 8.2 :** Réutilisation du lactate lors du cycle de Cori (p.46)
- Figure 8.3 :** Structure mitochondriale (p.49)
- Figure 8.4 :** Les différentes étapes et réactions du cycle de Krebs (p.50)
- Figure 8.5 :** Schéma simplifié de la phosphorylation oxydative (p.52)
- Figure 8.6 :** Schéma simplifié de la néoglucogenèse hépatique (p.53)
- Figure 8.7 :** Mécanisme de bêta-oxydation des acides gras (p.54)
- Figure 8.8 :** Cétogenèse des acides gras et devenir des corps cétoniques (p.56)
- Figure 8.9 :** Catabolisme des acides aminés et utilisation dans le métabolisme énergétique (p.57)
- Figure 8 :** Schéma synthèse (p.58)
- Figure 9 :** Unités intracellulaire énergétiques (p.60)
- Figure 10 :** Le système créatine kinase en fonction de la typologie musculaire (p.61)
- Figure 11 :** Schéma des différentes voies métaboliques et de leurs interactions (p.63)
- Figure 12 :** Le cercle vicieux des dommages oxydatifs dans le vieillissement mitochondrial (p.67)
- Figure 13 :** Modèle d'influence de la dynamique mitochondriale lors du vieillissement (p.69)
- Figure 14 :** Les différents types d'entraînement en endurance (continus versus intermittent) (p.78)
- Figure 15 :** Effet de l'âge et de l'entraînement en résistance sur la force musculaire (p.84)
- Figure 16 :** Modèle d'entraînement en accélération (p.88)
- Figure 17 :** Les différents protocoles d'entraînement (accélération versus endurance) (p.93)
- Figure 18 :** Fonctionnement général d'un spectromètre RMN (p.99)
- Figure 19 :** Différence pour une séance d'entraînement (accélération versus endurance) (p.101)
- Figure 20 :** Différence pour l'entraînement total (accélération versus endurance) (p.102)
- Figure 21 :** Vitesse maximale atteinte (V_{peak}) lors de l'entraînement en accélération (p.103)
- Figure 22 :** Evaluation des performances lors des tests triangulaires pré et post-entraînement (groupe accélération, contrôle et endurance) (p.104)
- Figure 23 :** VO_{2max} mesuré lors des tests triangulaires (p.105)
- Figure 24 :** Lactatémie mesurée 5 minutes post-test (p.106)
- Figure 25 :** Respiration mitochondriale du cœur, du gastrocnémien et du soleus (p.108)
- Figure 26 :** Score plot et loading plot des différents modèles OPLS obtenus pour la comparaison des échantillons d'urines des différents groupes (p.110)
- Figure 27 :** Adaptation du flux énergétique dans le muscle squelettique chez les souris déficientes à la créatine kinase cytosolique et mitochondriale (Double-KO) (p.121)

- Figure 28 :** Poids de toutes les souris miCK et contrôles à 6, 9 et 18 mois (p.129)
- Figure 29 :** Vitesse maximale atteinte lors des tests triangulaires à 0° et 25° d'inclinaison (p.130)
- Figure 30 :** Temps limite à 0° et 25° d'inclinaison (p.131)
- Figure 31 :** VO_{2max} atteint lors des tests triangulaires à 0° et 25° d'inclinaison (p.132)
- Figure 32 :** Temps passé à VO_{2max} lors des tests triangulaires à 0° et 25° d'inclinaison (p.133)
- Figure 33 :** Temps d'atteinte à VO_{2max} lors des tests triangulaires à 0° et 25° d'inclinaison (p.134)
- Figure 34 :** Lactatémie mesurée 5 minutes post-test à 0° et 25° d'inclinaison (p.135)
- Figure 35 :** Corrélation entre la lactatémie et le poids des souris (p.136)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques des différents types de fibres musculaires **(p.26)**

Tableau 2 : Classification simplifiée du VO_{2max} ($ml.kg^{-1}.min^{-1}$) et fonction de l'âge et du sexe **(p.37)**

Tableau 3 : Paramètres anatomiques avant et après entraînement pour le poids de corps des souris des différents groupes **(p.100)**

Tableau 4 : Effets des différents types d'entraînement sur l'activité enzymatique de la citrate synthase, de la lactate déshydrogénase, de la créatine kinase et de l'adénylate kinase dans le ventricule gauche du cœur et dans le quadriceps **(p.107)**

Tableau 5 : Données anatomiques des souris miCK et contrôles ayant été sacrifiées à 6, 9 et 18 mois **(p.128)**

ABREVIATIONS

ACR :	acceptor control ratio
ADN :	acide désoxyribonucléique
ADP :	adénosine diphosphate
AK (1 et 2) :	adénylate kinase (isoforme cytosolique et mitochondrial)
AMP :	adénosine monophosphate
AMPK :	adénosine monophosphate-activated protein Kinase
ANOVA :	analyse de la variance
ANT :	adenine nucleotide translocator
ATP :	adénosine triphosphate
ATPase :	enzyme hydrolysant ou synthétisant les molécules d'ATP
BCAAs :	acides aminés branchés
Ca²⁺ :	ion calcium
C_aO₂ :	contenu artériel en oxygène
CK :	créatine kinase
CO₂ :	dioxyde de carbone
CoA :	coenzyme A
CoA-SH :	fonction thiol de la cystéamine (composé du coenzyme A)
Cr :	créatine
CS :	citrate synthase
C_vO₂ :	contenu veineux en oxygène
D_{av}O₂ :	différence artério-veineuse en O ₂
Double-KO :	souris déficiente à la créatine kinase musculaire et mitochondriale
e⁻ :	électron
EDL :	extensor digitorum longus
EGTA :	ethylene glycol tetraacetic acid
ETC :	chaîne de transport d'électrons
FAD :	flavine adénine dinucléotide oxydé
FADH₂ :	flavine adénine dinucléotide réduit
FC :	fréquence cardiaque
FC_{max} :	fréquence cardiaque maximale
FGF :	fibroblast growth factor
G6P :	glucose-6-phosphate
GLUT4 :	transporteur de glucose 4
H⁺ :	proton
H₂O :	molécule d'eau
HK :	hexokinase
ICEUs :	unités énergétiques intracellulaires
LDH :	lactate déshydrogénase
LDH-H :	sous-unité majoritairement présente dans le cœur de la lactate déshydrogénase (isoforme oxydatif)
LDH-M :	sous-unité musculaire de la lactate déshydrogénase (isoforme glycolytique)
MCT (1 et 4) :	monocarboxylate transporteur (isoforme 1 et 4)

Mg²⁺ :	ion magnésium
Mi-CK :	créatine kinase mitochondriale
miCK :	souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale
MM-CK :	créatine kinase musculaire
MMCK :	souris déficientes à la créatine kinase musculaire
mTOR :	mammalian target of rapamycin
Na⁺ :	ion sodium
NAD⁺ :	nicotinamide adénine dinucléotide oxydé
NADH :	nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NH₃ :	ammoniac
NRF (1 et 2) :	nuclear respiratory factor 1 et 2
O₂⁻ :	anion superoxyde
O₂ :	dioxygène
OPLS :	orthogonal projection on latent structure
PCA :	principal component analysis
PCr :	phosphocréatine
PFK :	phosphofructokinase
PGC-1α :	peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α
Pi :	phosphate inorganique
PK :	pyruvate kinase
PMA :	puissance maximale aérobie
Qc :	débit cardiaque
RM :	répétition maximale
RMN :	résonance magnétique nucléaire
ROS :	reactive oxygen species
SEM :	erreur type de la moyenne
TA :	tibial antérieur
TFAM :	facteur de transcription mitochondrial A
V₀ :	taux basal de la respiration mitochondriale
V_{ADP} :	taux de respiration stimulé par l'ADP
VDAC :	voltage-dependent anion channels
VEGF :	vascular endothelial growth factor
VES :	volume d'éjection systolique
VES_{max} :	volume d'éjection systolique maximal
VMA :	vitesse maximale aérobie
V_{max} :	taux maximal de la respiration mitochondriale
VO₂ :	volume de dioxygène consommé par unité de temps (débit)
VO_{2max} :	volume maximal de dioxygène consommé par unité de temps ou plus communément appelé « consommation maximal d'oxygène ».
VO_{2min} :	consommation maximale d'oxygène minimum
VO_{2Reserve} :	amplitude d'utilisation du VO ₂ (= VO _{2max} - VO _{2min})
V_{peak} :	vitesse maximale atteinte
VTD :	volume télédiastolique

PREAMBULE

Bien que Xiao Dong vienne de récemment publier dans le journal Nature (Dong 2016) que la durée de vie maximale théorique semble avoir atteint une limite naturelle aux alentours de 122 ans, l'espérance de vie moyenne chez l'Homme ne cesse d'augmenter depuis des décennies. Ces dix dernières années, en France, les hommes ont gagné près de trois ans d'espérance de vie (79,4 ans) et les femmes deux (85,4 ans) selon l'Institut national d'études démographiques (Ined 2017). Malheureusement, les performances physiques et l'autonomie qui en découle chez les personnes âgées ne suivent pas cette augmentation. Cette baisse d'autonomie chez les personnes âgées est liée à différents facteurs, tels que la perte d'équilibre, les maladies neuro-dégénératives, les pathologies cardiaques, l'incontinence ou encore la sarcopénie, se définissant comme la perte de masse et de force musculaire avec l'âge, rendant chaque geste du quotidien de plus en plus difficile.

Le défi que l'on se pose aujourd'hui ne porte plus sur l'augmentation de l'espérance de vie maximale, mais principalement sur l'amélioration de notre qualité de vie avec le vieillissement, ou autrement dit : comment pourrions-nous augmenter notre espérance de vie **en bonne santé** ?

De cette question a découlé cette thèse. Car bien qu'il soit évident que la nutrition, les maladies ou les accidents influencent cette espérance de vie en bonne santé, nous savons aujourd'hui que l'activité physique en est un facteur fondamental, pouvant compenser dans une moindre mesure les nombreux déclin physiologiques de l'organisme avec l'âge.

Durant ces dernières années, plusieurs types d'entraînement physique ont été proposés chez l'adulte et la personne âgée. Nous pouvons distinguer l'entraînement en endurance dit continu qui se compose de séance longue et peu intense et les différents entraînements de haute intensité dont les séances sont généralement des successions d'exercices courts et intenses entrecoupées par des sessions de repos actif.

Néanmoins, ces entraînements généralement longs ont leurs limites. Notre premier objectif était donc de tester l'efficacité d'un nouveau type d'entraînement à court terme : l'accélération, sur la performance et d'en explorer les marqueurs biologiques, chez une population de souris âgées.

Notre second objectif découle de la volonté de comprendre l'évolution avec l'âge et l'utilité d'un de ces marqueurs biologiques mesurés qu'est la créatine kinase, enzyme intervenant dans les flux énergétiques. Ces derniers soulèvent un récent grand intérêt, notamment par leur impact actuellement trop sous-estimé dans le mécanisme du vieillissement. Nous avons donc analysé

l'évolution des capacités physiques de souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale (miCK) de 6 à 18 mois.

Le modèle murin, permettant de nombreuses analyses invasives et procurant des modèles mutants, a été utilisé. Les études sur les personnes sénescentes restant délicates, les possibilités de pouvoir étudier la souris de l'âge jeune à âgé en ont fait un choix adéquat.

Ce manuscrit se composera en premier lieu d'une synthèse des connaissances actuelles des effets du vieillissement sur l'organisme et la performance, puis de l'impact des différents entraînements utilisés pour contrecarrer ces effets délétères sur la performance et les adaptations métaboliques. Cet état de l'art sera suivi d'une section sur les objectifs scientifiques, avec en première partie l'étude sur notre nouveau protocole d'entraînement en accélération, suivie d'une deuxième partie sur l'étude du rôle de la créatine kinase mitochondriale avec l'âge. Enfin, une discussion générale sera proposée ainsi que les perspectives de ce travail.

ETAT DE L'ART

Effet du vieillissement sur l'organisme :

Le vieillissement, ou sénescence, se caractérise par un déclin progressif et naturel des fonctions de l'organisme. Il résulte de facteurs génétiques (facteurs intrinsèques) et environnementaux (facteurs extrinsèques), engendrant une importante hétérogénéité chez les humains. Le processus du vieillissement s'accompagne de changements anatomiques et physiologiques, réduisant les capacités d'adaptation aux différents stress et impactant l'état psychologique des personnes âgées.

Avec l'âge, la composition corporelle est modifiée, une réduction de la masse maigre (masse musculaire) au profit de la masse grasseuse est généralement observée. Cette atrophie musculaire avec l'âge (sarcopénie) induit une diminution de la force musculaire. Sur le plan histologique, la structure même du muscle squelettique et son phénotype se trouvent par ailleurs modifiés. Sur le plan physiologique, les fonctions cardiaques et respiratoires déclinent (VO_{2max} , FC). Il en est de même pour le fonctionnement des divers métabolismes énergétiques, impactés entre-autres par l'augmentation du stress oxydant au cours du vieillissement. Ces différents phénomènes peuvent avoir une incidence importante sur la réponse à l'exercice et les performances de l'homme, mais la réciproque est tout aussi vraie.

L'évolution, avec l'âge, de ces différents systèmes musculaires, cardiaques et respiratoires sera analysée point par point dans les chapitres suivants, de même que l'impact du facteur environnemental qu'est l'activité physique.

I. SYSTEMES MUSCULAIRE SQUELETTIQUE, CARDIO-RESPIRATOIRE ET VIEILLISSEMENT

Le vieillissement impacte les performances de l'homme avec l'âge. Les facteurs parmi les plus influents sur la diminution des capacités physiques avec l'âge sont une dégradation du système musculaire squelettique et du système cardio-respiratoire. Dans un premier temps, nous décrirons le fonctionnement et les propriétés de ces systèmes puis leur évolution au cours du vieillissement ainsi que l'impact de l'activité physique sur ces systèmes.

A. Système musculaire squelettique

1. Structure

Le système musculaire squelettique est composé d'un ensemble de fibres musculaires, de tissus conjonctifs, nerveux et vasculaires (**Figure 1**) recouvrant notre squelette et s'y attachant par l'intermédiaire de tendons. Les fibres musculaires désignent des cellules dont le but essentiel est la contraction. Elles sont composées de cellules appelées : myocytes. Ces cellules sont délimitées par une membrane cellulaire appelée sarcolemme et possèdent plusieurs noyaux cellulaires, des mitochondries et un ensemble de myofibrilles. Ces myofibrilles sont constituées de stries sombres et claires, appelées sarcomères. Ce sont les unités contractiles du muscle et elles sont composées de 2 myofilaments : le filament épais de myosine, possédant des sites de fixation pour l'adénosine triphosphate (ATP), molécule énergétique permettant la contraction musculaire, et le filament fin d'actine sur lequel viennent se fixer les têtes de myosine, engendrant le mécanisme de la contraction (**Figure 2**).

Figure 1 : Structure des fibres musculaires squelettiques (D'après Tortora et al. 1994)

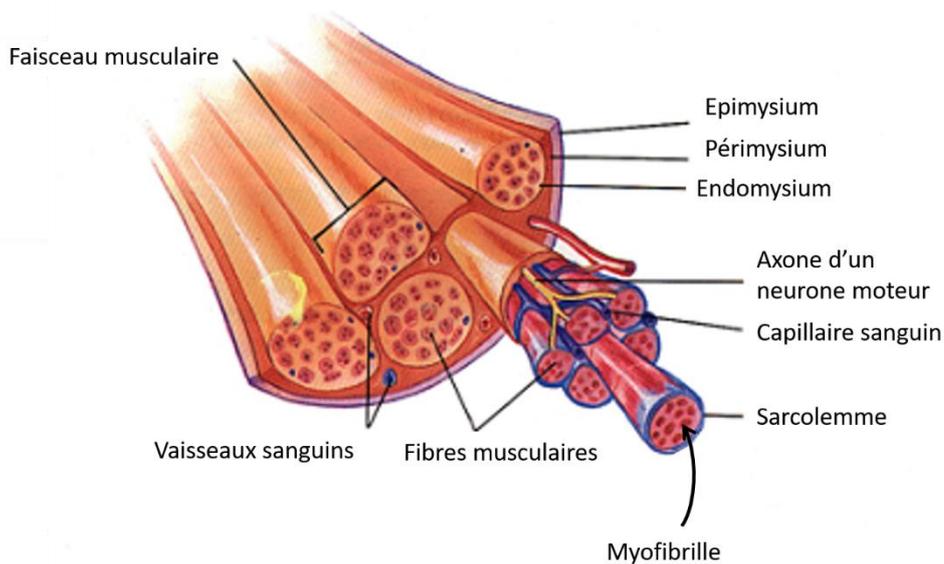
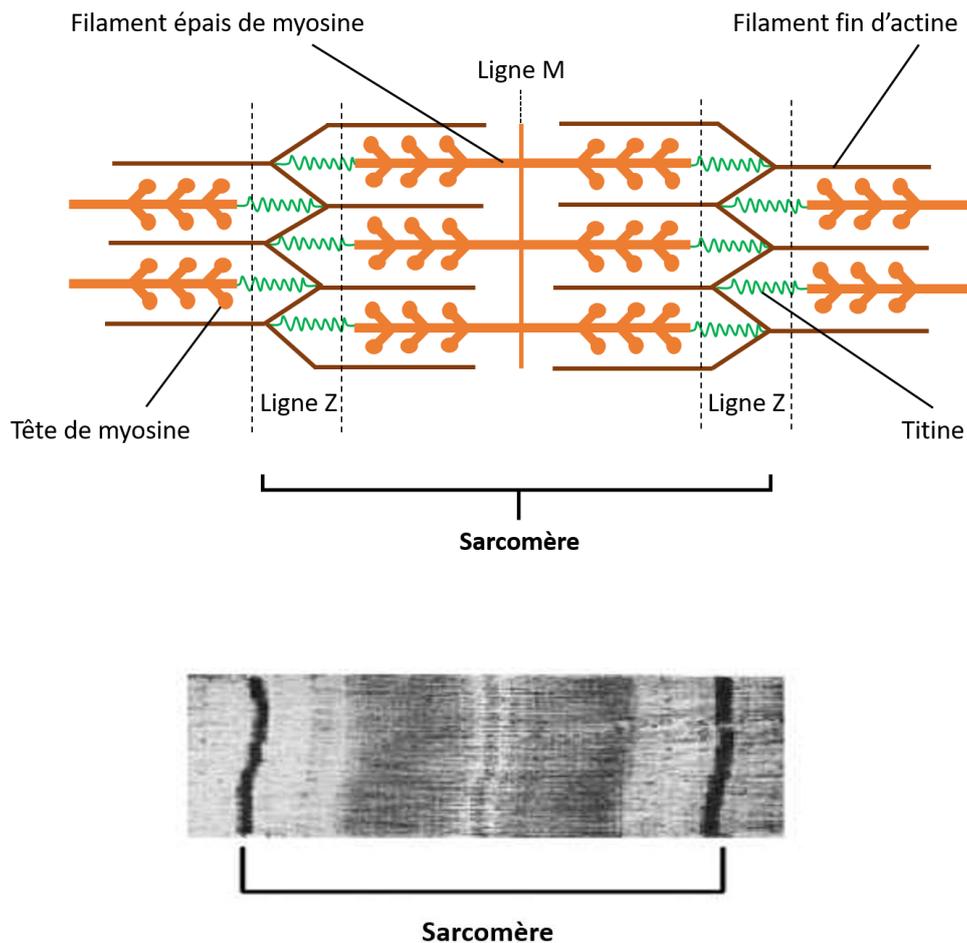


Figure 2 : Structure des myofibrilles



2. Propriétés et fonctionnement du muscle squelettique

Le muscle squelettique est l'organe qui assure la locomotion, il est donc indispensable pour toutes formes d'exercices physiques. Son rôle est de transformer l'énergie biochimique contenue dans les substrats énergétiques (protéines, glucides, lipides) en énergie mécanique. Il possède plusieurs propriétés qui sont l'élasticité, l'excitabilité, la contractilité et la plasticité.

a) *Elasticité musculaire*

Le muscle est un tissu extensible. Lorsque les fibres musculaires sont relâchées, un étirement au-delà de la longueur de repos est possible. Suite à cet allongement, les fibres musculaires ont la propriété physique de reprendre leur longueur de repos, c'est l'élasticité (Hill 1968, Borg 1980). Cette propriété joue un rôle important, notamment dans les sports de lancer où le rendement de force est amélioré grâce à cette élasticité musculaire. L'élasticité du sarcomère est régulée par la troisième protéine la plus abondante, après la myosine et l'actine, dans le muscle strié : la titine, assurant le

maintien de l'architecture myofibrillaire et étant capable de résister à l'extension du muscle relâché (Wang 1979, Wang 1991) (**Figure 2**).

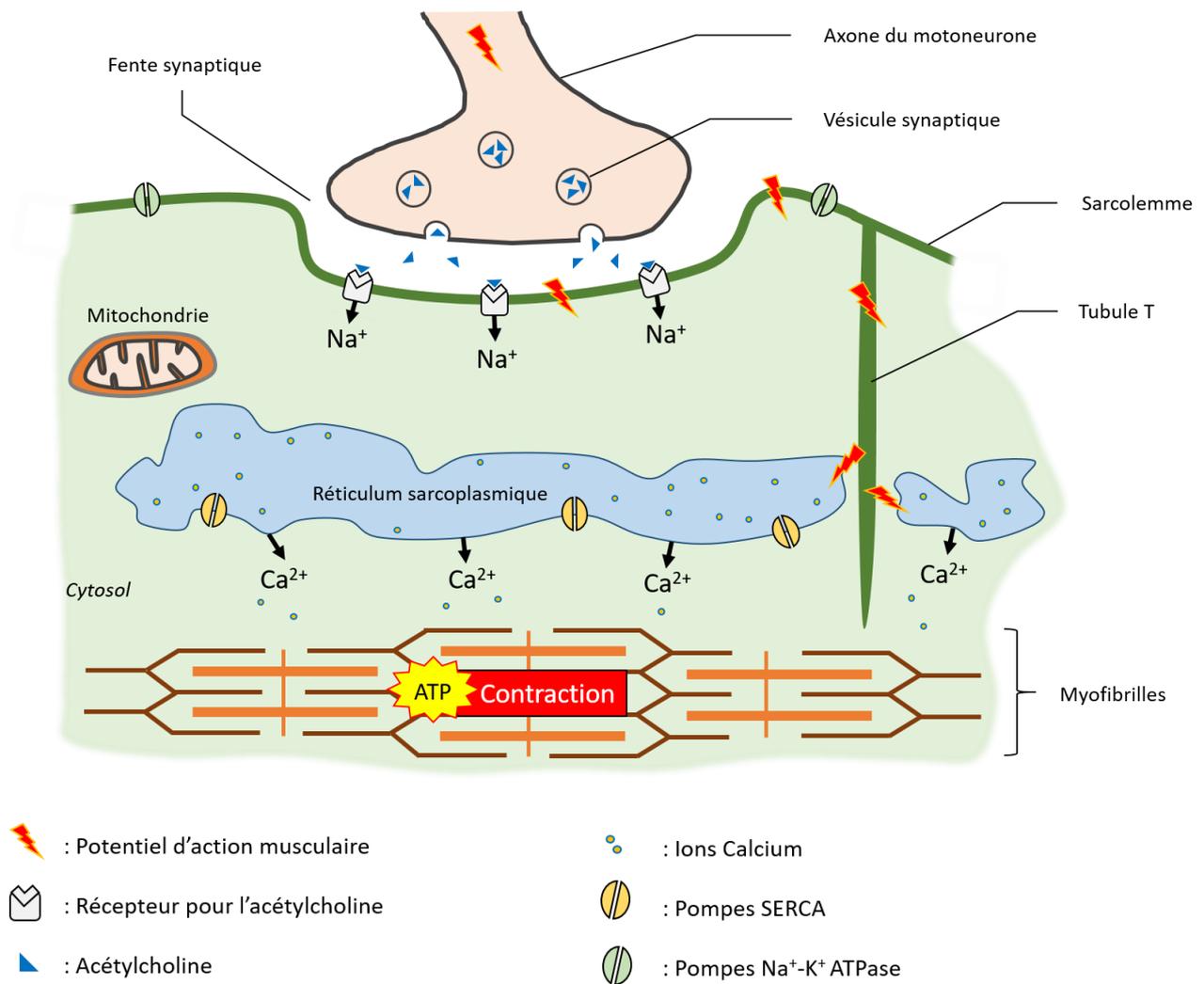
b) Stimulation et contraction musculaire

Le muscle squelettique est capable de recevoir un stimulus de nature chimique : l'acétylcholine. Des motoneurones, contrôlés par le système nerveux (cerveau ou moelle épinière), innervent les fibres musculaires. Un motoneurone innerve et active simultanément plusieurs fibres musculaires, ceci correspond alors à une unité motrice. Suite à un stimulus, l'axone du motoneurone se dépolarise. La terminaison nerveuse motrice va alors libérer, au niveau de la jonction neuromusculaire l'acétylcholine, neurotransmetteur se fixant sur ses récepteurs spécifiques de la plaque motrice, provoquant l'ouverture des canaux ioniques de la membrane musculaire et l'entrée d'ions sodium (Na^+) dans le muscle (**Figure 3**).

Si l'entrée de sodium est suffisante, un potentiel d'action musculaire se forme et se propage dans toute la fibre musculaire grâce au sarcolemme et au réseau de tubules transverses (tubule T). L'arrivée de ce potentiel d'action au niveau du réticulum sarcoplasmique provoque la libération du calcium dans les myofibrilles permettant alors la fixation des têtes de myosine sur les filaments fins d'actine, conditionnant le glissement des filaments et assurant ainsi le phénomène mécanique de la contraction musculaire en présence d'ATP (Huxley 1969, Gordon 2000) (**Figure 3**).

Plus précisément, c'est l'action de la myosine ATPase, une enzyme permettant d'hydrolyser l'ATP ($\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi} + \text{Energie}$) au niveau des têtes de myosine, qui conduit à la libération d'énergie et à la contraction musculaire (Lymn 1971). Une fois que le potentiel d'action cesse, le retour actif (demandant une consommation d'ATP) du calcium dans le réticulum sarcoplasmique permet la relaxation de la fibre musculaire. En effet, l'ATP n'est pas seulement hydrolysée au niveau de la myosine mais est aussi nécessaire au fonctionnement des pompes ioniques telles que la pompe calcium au niveau du réticulum sarcoplasmique (pompe SERCA : SarcoEndoplasmic Reticulum Ca^{2+} ATPase), permettant le recaptage du calcium et la relaxation musculaire (Periasamy 2008), et la pompe sodium-potassium au niveau de la membrane cellulaire permettant le transport du sodium (Na^+) et du potassium (K^+) contre leur gradient de concentration et régulant le potentiel électrochimique de la membrane (Scheiner-Bobis 2002).

Figure 3 : Schéma d'une stimulation musculaire de la plaque motrice aux myofibrilles.



c) Type de fibres et plasticité musculaires

Le muscle squelettique est un tissu formé de fibres musculaires de plusieurs types possédant des propriétés structurales et fonctionnelles différentes. La fonction contractile du muscle résulte alors de la proportion des différents types de fibres le composant, donnant ainsi un rôle physiologique unique à chaque muscle (posture, locomotion, effort intense).

Plusieurs types de fibres musculaires striées existent chez les mammifères, dépendant structurellement des isoformes de myosine qu'elles contiennent (Reiser 1985, Gueguen 2006, Schiaffino et Reggiani 2011, Peng Wu 2017) mais aussi de l'activité de la myosine ATPase (Barany 1967, Gueguen 2006, Schiaffino et Reggiani 2011) influençant la vitesse maximale de raccourcissement des myofilaments. Ces fibres se différencient par plusieurs aspects tels que : leur vitesse et leur force maximale de

contraction, leur résistance à la fatigue et le métabolisme qu'elles utilisent pour resynthétiser l'ATP (Karp 2001, Gundersen 2011, Schiaffino et Reggiani 2011) (**Tableau 1**).

Il existe ainsi, chez les mammifères, 4 types de fibres musculaires pures : I, IIa, IIx et IIb et des fibres musculaires hybrides : I/IIa, IIa/IIx et IIb/IIx (Schiaffino et Reggiani 2011, Peng Wu 2017).

Les fibres de type I (fibres lentes) ont un seuil d'activation bas et seront donc mobilisées pour des contractions faibles. Elles interviennent donc lors d'exercices prolongés de faible intensité. Elles ont une grande résistance à la fatigue et une vitesse de contraction lente. Le métabolisme oxydatif est préférentiellement utilisé, c'est pourquoi ce type de fibre nécessite un plus grand nombre de capillaires, de mitochondries et de myoglobines, hémoprotéines musculaires permettant le transport du dioxygène dans le muscle et donnant cette couleur rouge aux fibres musculaires de type I (Karp 2001, Schiaffino et Reggiani 2011).

Les fibres de type II (fibres rapides) sont divisées en trois sous-parties, les fibres IIa, IIx et les fibres IIb. **Les fibres IIb** ont une force et une vitesse de contraction très élevées et sont généralement associées aux activités intenses et de courte durée car très fatigables. Elles utilisent essentiellement le métabolisme glycolytique et contiennent donc peu de mitochondries et de myoglobines (fibre blanche). **Les fibres de type IIa** ont, quant à elles, une utilisation à la fois du métabolisme oxydatif et glycolytique. Elles possèdent plus de mitochondries et de myoglobine que les fibres IIb et sont donc plus résistantes à la fatigue que celles-ci, tout en ayant une force de contraction plus élevée que les fibres de type I. **Les fibres de type IIx** sont un intermédiaire entre les fibres IIa et IIb. (Gundersen 2011, Schiaffino et Reggiani 2011)

Tableau 1 : Caractéristiques des différents types de fibres musculaires (Karp 2001, Gueguen 2006, Gundersen 2011)

	Type I	Type IIa	Type IIb
Métabolisme utilisé	Aérobie	Aérobie et anaérobie	Anaérobie
Vitesse de contraction	+	++	+++
Force de contraction	+	++	+++
Résistance à la fatigue	+++	++	+
Nombres de mitochondries	+++	++	+
Concentration en myoglobine	+++	++	+
Vascularisation	+++	++	+
ATPase	Lente	Moyenne	Rapide
Enzymes oxydatives	+++	++	+

	Type I	Type IIa	Type IIb
Enzymes glycolytiques	+	++	+++
Phosphocréatine (PCr) comme substrat énergétique	+	++	+++
Glucose comme substrat énergétique	+	++	+++
Acides gras libres comme substrat énergétique	+++	++	+
Taille du réticulum sarcoplasmique	+	++	+++
Isoformes de la créatine kinase (CK) dominants	Mi-CK	Mi-CK et MM-CK	MM-CK

La majorité des muscles squelettiques est constituée de plusieurs types de fibres dont le pourcentage varie considérablement en fonction du muscle, de l'entraînement et de l'âge. Ainsi, un muscle postural aura une plus grande majorité de fibres de type I, tandis qu'un muscle actif impliqué dans les efforts intenses aura une proportion plus élevée de fibres de type II. Cette capacité des fibres musculaires à changer de type fibrillaire permet cette adaptation musculaire à l'exercice. La conversion suit généralement l'ordre suivant I ↔ IIa ↔ IIx ↔ IIb (Gundersen 2011, Schiaffino et Reggiani 2011).

Néanmoins, certaines différences sont à noter entre les espèces. Si chez le rats, la souris ou le lapin, toutes ces fibres musculaires sont détectables, ce n'est cependant pas le cas chez l'humain chez qui, les types de fibres IIb restent indétectables (bien que le gène correspondant soit présent dans le génome) (Schiaffino et Reggiani 2011). De même, il est important de préciser que les proportions de ces types de fibres pour un même muscle peuvent être différentes entre les espèces. Pour exemple, dans le muscle soleus, les proportions des différents types de fibres musculaire sont de : type I (38%), type IIa (53%), type IIx (9%) chez la souris tandis qu'elles sont de : type I (90,3%), type IIa (8,6%), type I/IIa (1.1%) chez le rat (Kammoun 2014, Peng Wu 2017).

Le muscle, tout comme le corps humain, s'adapte. C'est sa propriété de plasticité qui permet au muscle squelettique de modifier sa structure selon ses besoins. Ainsi, le type de fibres musculaires et la masse musculaire peuvent varier en fonction du mode de vie (inactivité physique, exercice, nutrition), des pathologies (diabète, maladies neurodégénérative), de l'environnement (gravité, hypoxie) ou de l'âge. Cette fonction est importante car elle permet d'expliquer un grand nombre d'adaptations cellulaires au stimulus de l'activité physique ou au cours du vieillissement.

3. Plasticité et force musculaire avec l'âge

Au cours du vieillissement, on observe une diminution concomitante de la masse et de la force musculaires : la sarcopénie. Ainsi, à partir de 50 ans, on estime, une perte allant de 0.5% à 1% de la masse musculaire totale par an (Tzankoff 1977, Mitchell 2012), et une diminution de 2 à 5 fois plus importante pour la force musculaire (Mitchell 2012). Elle s'accompagne d'une dégradation des capacités physiologiques et des performances diminuant ainsi peu à peu l'autonomie chez les personnes âgées (Hughes 1996, Hunter 2004, Butler-Browne et Bigard 2006).

Plusieurs facteurs interviennent dans cette fonte musculaire chronique. Tout d'abord, avec l'âge, un déséquilibre entre protéolyse et protéosynthèse musculaire se crée en faveur de la protéolyse (Butler-Browne et Bigard 2006). Ainsi, on observe un remplacement des fibres musculaires nécrosées par du tissu conjonctif et grasseux. En d'autres termes, une transition de la masse maigre vers de la masse grasseuse s'opère chez l'homme comme chez le rongeur (Hunter 2004, Figueiredo 2009, Houtkooper 2011, Flack 2011, Mitchell 2012, Miljkovic 2015).

Le vieillissement impact également la production de force d'un point de vue qualitatif en altérant notamment les interactions entre les têtes de myosine et les filaments fins d'actine (Miller 2014, Moen 2014, Miljkovic 2015). En effet, avec l'âge, la suppression/modification des têtes de myosine au niveau du filament épais par le stress oxydant, ou la réduction du nombre de filaments fins d'actine, réduirait le nombre de têtes capables d'interagir dans un demi-sarcomère et entraînerait une production de force plus faible chez les personnes âgées (Miller 2014, Moen 2014). La diminution de la cinétique de formation des ponts actine-myosine, semblant être plus fortement présente chez la femme que chez l'homme (Miller 2013), contribue à la réduction des performances et des capacités fonctionnelles musculaires au cours du vieillissement (Millers 2013, Millers 2014, Miljkovic 2015).

D'autre part, l'atrophie musculaire avec l'âge est liée à une réduction du nombre de fibres musculaires, concernant majoritairement les fibres musculaires rapides de type II (Coggan 1992, Pyka 1994, Hunter 2004, Miljkovic 2015, Brooks 2016). Plus précisément, on observe une dégénérescence des motoneurones au cours du vieillissement, et une diminution du diamètre fibrillaire touchant principalement ces fibres de type II (Booth 1994, Edström 2007, Mitchell 2012, Miljkovic 2015). Cette dénervation des fibres de type II engendre alors un remodelage et un changement de typologie des unités motrices au profit des fibres musculaires lentes de type I.

Récemment, face à la réduction du nombre d'unités motrices et à l'altération du contrôle nerveux de nos mouvements au cours du vieillissement, le concept de sarcopénie a été élargie à celui de

DYNAPENIE prenant ainsi en compte cette perte de fonctionnalité du système neuromusculaire avec l'âge (Clark et Manini 2012, Mitchell 2012, Duchateau 2014).

Ce changement de typologie musculaire et cette réduction du nombre de motoneurones (innervant majoritairement les fibres rapides de type II) impliquent une diminution de la masse musculaire et de la force de contraction avec l'âge (Hunter 2004, Brooks 2016). De plus, il a été montré qu'avec le vieillissement, la relaxation musculaire, correspondant au recaptage du calcium par le réticulum sarcoplasmique après une contraction, est ralentie de manière conséquente (Payne 2004, Miljkovic 2015). En découle alors une diminution de la vitesse de contraction. Ces diminutions concomitantes de la force et de la vitesse de contraction impliquent alors une diminution de la puissance de contraction.

La diminution du nombre et de la stimulation des unités motrices de type II expliquerait donc en grande partie le déclin de la force et de la puissance musculaire avec l'âge, tandis que la transition vers un phénotype constitué plus majoritairement de fibres de type I engendrerait une relative meilleure résistance à la fatigue musculaire (Hunter 2004, Kent-Braun 2009, Brooks 2016). Néanmoins, il est important de noter que l'activité physique, la sédentarisation, le statut nutritionnel ou encore les maladies neurodégénératives sont autant de facteurs pouvant moduler ces dégradations de l'organisme avec l'âge.

4. Muscles squelettiques et exercice

La propriété de plasticité du muscle squelettique le rend très sensible aux charges mécaniques. L'activité physique, notamment, induit différentes adaptations dépendantes du volume, de l'intensité et du type d'exercice réalisé.

Ainsi, il a été montré que les exercices en force/résistance, utilisant une intensité élevée d'exercice induisent une synthèse protéique musculaire (Schulte 2001, Hunter 2004, Harridge, 2007) engendrant une hypertrophie des muscles sollicités (Schulte 2001, Kraemer 2004, Brook 2016), notamment en stimulant la voie de signalisation mTOR (mammalian Target Of Rapamycin), une enzyme régulant la croissance cellulaire et la synthèse protéique (Drummond 2009, Brooks 2016, Smiles 2016) (**Figure 4**) ou en inhibant l'activité de la myostatine, une protéine limitant la croissance des tissus musculaires (Schulte 2001, Harridge 2007). Cette hypertrophie impacte plusieurs types de fibres musculaires (I, IIa et IIb) (Pyka 1994, Kraemer 1995, Hakkinen 2002, Lambert 2005) augmentant la taille des fibres de type I et principalement les fibres de type IIa (Kraemer 1995, Lambert 2005, Harridge 2007) souvent au détriment des fibres IIb (Kraemer 1995, Hakkinen 2002, Lambert 2005), et cela même pour le

muscle âgé (Schulte 2001, Hunter 2004, Lambert 2005), compensant alors le déclin des fibres de type II chez les personnes âgées. En termes de performance, ces adaptations peuvent engendrer, en plus d'une augmentation de la masse musculaire, un gain de force musculaire (Pyka 1994, Kraemer 2004, Latham 2004, Brooks 2016) améliorant les capacités physiques des sujets âgés (Hakkinen 2002, Hunter 2004).

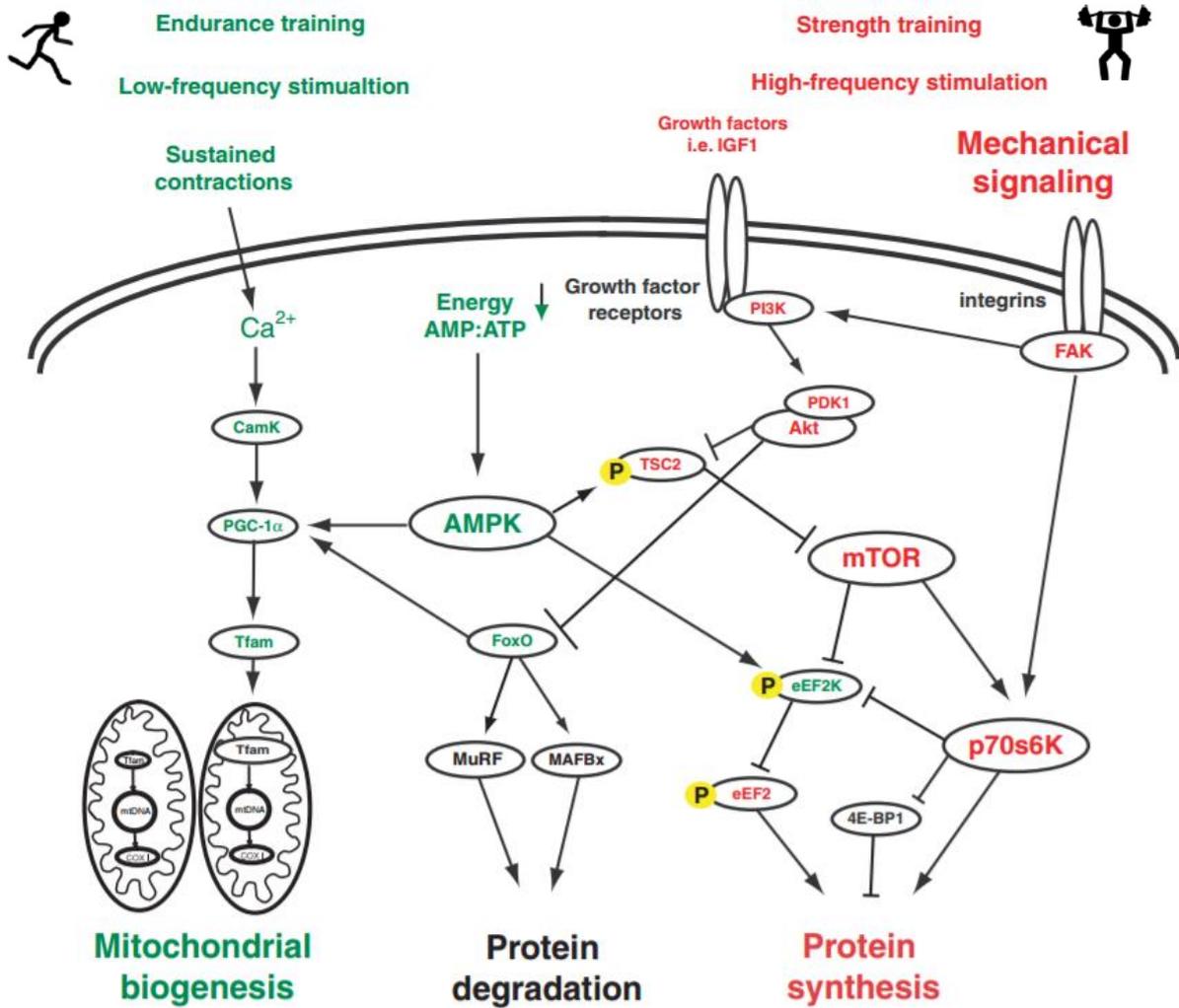
Les entraînements en endurance basés sur une durée d'exercice plus long et sur une intensité plus faible impactent de manières différentes le muscle squelettique. En effet, les exercices moins intenses agissent principalement sur la fatigabilité du muscle (jeune ou âgé), en augmentant principalement les myofibrilles de type I, mais aussi IIa (Schantz, 1986, Coggan 1992, Lambert 2005), en améliorant le maintien de la force (Betik 2008) ainsi qu'en stimulant la biogénèse mitochondriale (Bigard 2007, Jornaycaz 2010, Brooks 2016). Cette biogénèse mitochondriale est notamment induite par l'action de PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α) (Liang 2006, Jornaycaz 2010, Smiles 2016), un co-activateur transcriptionnel activant d'autres facteurs de transcriptions nucléaires tels que NRF1 et NRF2 (nuclear respiratory factor 1 et 2). En conséquence de l'activation de ces facteurs de transcription, une augmentation de l'expression de nombreuses protéines telles que TFAM (facteur de transcription mitochondrial A) se produit. TFAM, une fois traduit dans le cytosol de la cellule, entre la matrice mitochondriale entraînant une augmentation de la réplication et de l'expression de l'ADN mitochondrial stimulant ainsi la synthèse des 13 protéines mitochondriales (Sévin et Girard 1999, Hoppeler 2011, Picca 2015). Par ailleurs, PGC-1 α est lui-même activé par l'AMPK (Adénosine MonoPhosphate-activated protein Kinase) (Zong 2002, Jornaycaz 2010, Smiles 2016) (**Figure 4**), une enzyme clé dans la régulation de la biogénèse mitochondriale, activée par l'augmentation de la concentration intracellulaire en AMP lors de stress énergétique (ex : activité physique) (Atherton 2005, Jornaycaz 2010), favorisant les réactions métaboliques génératrices d'ATP (B-oxydation, glycolyse) et inhibant les voies anaboliques consommatrices d'ATP (synthèse protéique) (Foretz 2006).

Une augmentation de la densité capillaire et du ratio capillaire/fibre a aussi été détecté après des entraînements en endurance dans les muscles de typologie mixtes (Schantz, 1986, Coggan 1992, Lambert 2005, Rossiter 2005). Cet enrichissement du réseau capillaire se fait de manière homogène quel que soit le type de fibres, oxydatives comme glycolytiques et est majoritairement lié à l'angiogenèse (Biro 2003). L'angiogenèse représente la formation de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants et est principalement stimulée par des facteurs angiogéniques tels que les protéines VEGF (Vascular endothelial growth factor) et FGF (Fibroblast Growth Factor) (Biro 2003).

Néanmoins, en termes de puissance, de gain de force et de masse musculaire, les entraînements en résistance/force semblent plus efficaces, que ce soit chez les jeunes ou chez les individus âgés (Hunter

2004, Betik 2008 et 2009). L'implication notamment de l'AMPK inhibant les voies de signalisation de la synthèse protéique (**Figure 4**) en serait un des principaux facteurs responsables (Hoppeler 2011, Brooks 2016, Smiles 2016).

Figure 4 : Effets des entraînements en résistance ou en endurance sur les voies de signalisation de la synthèse protéique et de la biogénèse mitochondriale (Hoppeler 2011).



SYNTHESE

sur le système musculaire squelettique

Avec l'âge, une transition naturelle, correspondant à une perte des types de fibres glycolytiques (II) au profit des fibres oxydatives (I) se réalise, impactant les performances musculaires en diminuant la masse et la force musculaire. Ces modifications phénotypiques rendent alors plus difficilement réalisables les efforts quotidiens, déclinant l'autonomie chez les personnes âgées. Si la sédentarité peut aggraver ces effets, l'activité physique a au contraire un impact bénéfique. En effet, les différents types d'entraînement (endurance, résistance, force) permettent de diminuer les effets de la sarcopénie/dynapénie. Les entraînements les plus efficaces pour compenser le déclin de la masse et de la force musculaire semblent être basés sur des exercices de hautes intensités (résistance/force), efficaces chez les sujets jeunes comme chez les sujets âgés.

Toutes ces améliorations musculaires sont le résultat d'une adaptation aux différents stimuli environnementaux (activité physique ou quotidienne, nutrition) et permettent une meilleure autonomie chez la personne âgée en facilitant les gestes du quotidien. Mais toute activité musculaire nécessite un apport sanguin et un approvisionnement en oxygène (O₂), apport assuré par le système cardio-respiratoire.

B. Système cardio-respiratoire

La cellule musculaire consomme de l'énergie (ATP) nécessaire au fonctionnement de l'organisme et dont la demande augmente fortement lors d'exercices physiques ou pour tous gestes quotidiens. Ces besoins musculaires nécessitent une importante production énergétique et par conséquent certaines adaptations de l'organisme, que sont les adaptations métaboliques, ventilatoires ou encore cardiovasculaires. Dans ce chapitre, après avoir décrit le système cardio-respiratoire nous nous intéresserons aux effets du vieillissement et de l'activité physique sur les possibles adaptations cardiovasculaires et ventilatoires.

1. Le cœur et sa fonction

a) Généralités

La circulation sanguine permet le transport du sang, de l'oxygène et des différents éléments qui le constituent dans l'ensemble de l'organisme grâce à un réseau de vaisseaux sanguins. Dans ce

système cardiovasculaire, le cœur a un rôle prépondérant, puisqu'il assure la mise en mouvement et l'éjection du sang à travers tout le réseau vasculaire.

On distingue généralement la partie gauche du cœur (composé de l'atrium gauche et du ventricule gauche) de la partie droite (atrium droit et ventricule droit). Si le cœur droit représente la pompe cardiaque de la petite circulation permettant la réoxygénation du sang, le cœur gauche, dont le myocarde est plus épais et sa contraction plus puissante, éjecte le sang oxygéné dans la circulation systémique.

b) Cardiomyocytes et fréquence cardiaque

Les cardiomyocytes, cellules musculaires cardiaques, ont des propriétés communes à celles des cellules musculaires squelettiques (rhabdomyocytes), et sont spécialisées dans un travail mécanique : la contraction musculaire. Ainsi, le fonctionnement des sarcomères est similaire à celui des rhabdomyocytes. Cependant, à la différence des rhabdomyocytes, les cardiomyocytes possèdent généralement un seul noyau, un plus grand nombre de mitochondries et la caractéristique de se contracter spontanément et de façon rythmique.

Toutefois, cette activité contractile spontanée est aussi sous l'influence du système nerveux autonome modulant la fréquence cardiaque en fonction des besoins. On distingue alors le système nerveux parasympathique : ralentissant le rythme cardiaque grâce au neurotransmetteur qu'est l'acétylcholine, et le système nerveux sympathique : accélérant le rythme cardiaque par l'intermédiaire des catécholamines.

Lors d'un exercice, la variation de stimulation sympathique et parasympathique permet l'augmentation de la fréquence cardiaque pour répondre aux besoins de l'organisme. Ainsi, pour les intensités relativement faibles, la diminution de l'action parasympathique permettra l'augmentation de la fréquence cardiaque, tandis que pour les intensités plus élevées, c'est principalement l'augmentation de l'action sympathique qui en sera responsable. Cette fréquence cardiaque est limitée par un maximal dépendant de l'âge. La fréquence cardiaque maximale est approximativement donnée par les équations : $FC_{\max} = 220 - \text{âge (en année)}$ de Astrand en 1954, ou plus récemment et plus précisément par $FC_{\max} = 191.5 - 0.007 * \text{âge}^2$ de Gellish en 2007.

c) Contraction du myocarde et débit cardiaque

L'activité électrique périodique décrite précédemment engendre l'activité mécanique du cœur, composée de la contraction (systole) puis de la relaxation (diastole) de ses différentes cavités. Plus communément, la fonction systolique représente l'ensemble des mécanismes permettant

d'éjecter le sang dans la circulation systémique, correspondant à la phase de contraction du ventricule gauche. De même, la fonction diastolique nomme communément les mécanismes de remplissage du ventricule gauche. Le volume de sang éjecté à chaque contraction est appelé volume d'éjection systolique (VES). Suivant la loi de Franck-Starling, tout étirement des fibres myocardiques entraîne une augmentation de leur contractilité ; le VES est donc principalement conditionné par le volume de remplissage du ventricule en fin de diastole (Volume télédiastolique : VTD).

A l'exercice, la fréquence cardiaque augmente, et le temps imparti pour la diastole et le remplissage du ventricule gauche diminue donc en conséquence impliquant donc une limite au VES maximal possible. Un plateau de VES est ainsi atteint aux environs de 70% de la FC_{max} et de 40-50% du VO_{2max} (débit maximal d'oxygène), dépendant du sexe, de l'âge et de l'entraînement du sujet (Gledhill 1994, Vella & Robergs, 2005).

Le débit cardiaque (Q_c), se définit comme le produit de la fréquence cardiaque et du volume d'éjection systolique ($Q_c = FC * VES$), correspondant à la quantité de sang éjectée dans la circulation systémique en une minute. Comme il dépend de la FC et du VES, le débit cardiaque augmente progressivement avec l'intensité de l'exercice (Gledhill et al., 1994, Vella & Robergs, 2005, Rowland, 2009).

Au repos, les muscles n'utilisent qu'environ 20% des 5L éjectés par le cœur à chaque minute, mais à l'exercice, la redistribution sanguine et la vasodilatation musculaire vont permettre aux muscles de recevoir une proportion beaucoup plus importante du débit sanguin (Joyner et Casey 2015). C'est environ 80-90% du débit sanguin qui est alors distribué aux muscles actifs (Joyner et Casey 2015).

Avec l'activité musculaire, le système cardiovasculaire s'adapte donc dans le but d'apporter le dioxygène, les nutriments et les hormones nécessaires au bon fonctionnement des muscles squelettiques, mais aussi afin de rejeter les déchets (dioxyde de carbone : CO_2) de l'organisme. Il se doit donc de fonctionner en synergie avec le système respiratoire.

2. Le système respiratoire et sa fonction

Tout comme le système cardiovasculaire, le système respiratoire répond à des besoins musculaires. L'augmentation de la demande cellulaire en dioxygène et des besoins d'extraction du dioxyde de carbone est à l'origine de la réponse respiratoire et entraîne, dès lors, une augmentation de la ventilation. Sa fonction principale sera donc d'effectuer les échanges gazeux entre l'organisme et le milieu extérieur, permettant ainsi l'absorption de dioxygène O_2 et le rejet de dioxyde de carbone CO_2 .

a) Généralités

La respiration comprend 3 processus : la ventilation pulmonaire, la respiration externe et la respiration interne.

La ventilation pulmonaire est le mécanisme permettant les échanges gazeux entre l'atmosphère et les alvéoles pulmonaires. Ces échanges se basent sur le principe de gradient de pression. Ainsi à l'inspiration, la contraction du diaphragme et des intercostaux externes augmente le volume intra-thoracique, ayant pour conséquence une diminution de la pression intra-pulmonaire et l'entrée d'air, et du dioxygène le composant, dans les alvéoles. A l'inverse, lors de l'expiration, le relâchement des muscles inspiratoires ainsi que la compliance pulmonaire engendrent une diminution du volume intra-thoracique et une élévation de la pression intra-alvéolaires, expulsant l'air contenu dans les poumons vers le milieu extérieur.

Le deuxième processus qu'est la respiration externe a pour objectif la diffusion de l'O₂ et du CO₂ entre les alvéoles pulmonaires et les capillaires pulmonaires. Il permet la conversion du sang désoxygéné provenant du cœur (ventricule droit) en sang oxygéné retournant vers le cœur (ventricule gauche), ainsi que le rejet du CO₂ provenant du ventricule droit

Suite à la prise de relai du système cardiovasculaire pour transporter le sang oxygéné aux cellules tissulaires, le troisième processus se met en place : la respiration interne. Celui-ci correspond à l'échange d'O₂ et de CO₂ entre les capillaires sanguins et les cellules de l'organisme. Ici, le sang oxygéné libère son O₂ qui se diffuse vers les cellules, tandis que le CO₂ provenant des cellules passe dans le sang.

Ces nombreuses étapes de diffusion de l'oxygène, des alvéoles aux cellules musculaires, ont pour objectif son utilisation par les chaînes respiratoires mitochondriales permettant ainsi le renouvellement de l'ATP indispensable à la contraction musculaire.

b) Consommation d'oxygène (VO₂) et exercice

L'organisme s'adapte afin de fournir l'énergie nécessaire en réponse aux besoins musculaires. Un des facteurs le plus plébiscité dans l'entraînement est la consommation maximale d'oxygène : VO_{2max}. Elle a été définie comme la quantité maximale d'oxygène utilisé par l'organisme par unité de temps (Hill et Lutpon en 1923). Ce débit s'exprime généralement en mL.min⁻¹ et afin de permettre des comparaisons interindividuelles, est souvent rapporté au poids de corps de l'individu ou de l'animal (mL.kg⁻¹.min⁻¹) (Taylor 1955).

Cette consommation d'oxygène peut se calculer grâce à la relation décrite par Fick en 1870 :

$$\dot{V}O_2 = \dot{Q}_c \times (D_{av}O_2)$$

$$\Leftrightarrow VO_2 = FC \times VES \times (C_aO_2 - C_vO_2)$$

Cette équation calcule donc la consommation d'oxygène (VO_2 , en $mL_{(O_2)} \cdot \text{min}^{-1}$) grâce au produit du débit cardiaque (Q_c , en $L_{(\text{sang})} \cdot \text{min}^{-1}$) par la différence artério-veineuse en O_2 ($D_{av}O_2$). Plus précisément, le débit cardiaque est le produit de la fréquence cardiaque (FC , en $\text{batt} \cdot \text{min}^{-1}$) par le volume d'éjection systolique (VES , en $L_{(\text{sang})}$), alors que la $D_{av}O_2$ correspond à la différence entre le contenu artériel en oxygène (C_aO_2 , en $mL_{(O_2)} \cdot L_{(\text{sang})}^{-1}$) et le contenu veineux en oxygène (C_vO_2 , en $mL_{(O_2)} \cdot L_{(\text{sang})}^{-1}$).

Néanmoins, cette mesure de VO_2 est difficile et coûteuse à mettre en place. La plupart des études, dont la nôtre, effectuent cette mesure de la consommation d'oxygène au niveau pulmonaire et non tissulaire. Elle se calcule alors par la différence entre la quantité d'oxygène inspirée et la quantité d'oxygène expirée par minute.

Avec l'augmentation de l'intensité d'un exercice, la consommation d'oxygène atteint un maximal ($VO_{2\text{max}}$). $VO_{2\text{max}}$ est généralement accepté comme un facteur de performance aérobie et est déterminant dans l'évaluation du bon fonctionnement du système cardio-respiratoire (Astrand 1954, Bassett 2000, Midgley 2006). Nous verrons ci-après comment l'entraînement, ainsi que le vieillissement impactent cette consommation maximale d'oxygène.

3. Effet de l'âge sur le système cardio-respiratoire

Tout comme le système musculaire squelettique, le système cardiovasculaire et le système respiratoire subissent les effets de l'âge. Comme nous l'avons précisé précédemment, ces deux derniers systèmes fonctionnent en synergie : le système respiratoire permet les échanges de gaz tandis que le système cardiovasculaire effectue le transport de ces gaz (entre autres). Il est donc important de les étudier ensemble. Dans le cadre de notre étude, nous nous attarderons principalement sur la consommation d'oxygène (VO_2).

Actuellement, la consommation maximale d'oxygène ($VO_{2\text{max}}$), est autant un facteur de performance aérobie qu'un indicateur de bonne santé. Certaines études le considèrent d'ailleurs comme un prédicteur majeur de la mortalité (Myers 2002, Hawkins 2003). En effet, bien que les études ne soient pas encore toutes en accord concernant le degré de diminution de $VO_{2\text{max}}$ avec l'âge, elles s'entendent pour dire que celle-ci diminue avec le vieillissement (Hawkins 2003, Pimentel 2003, Fleg

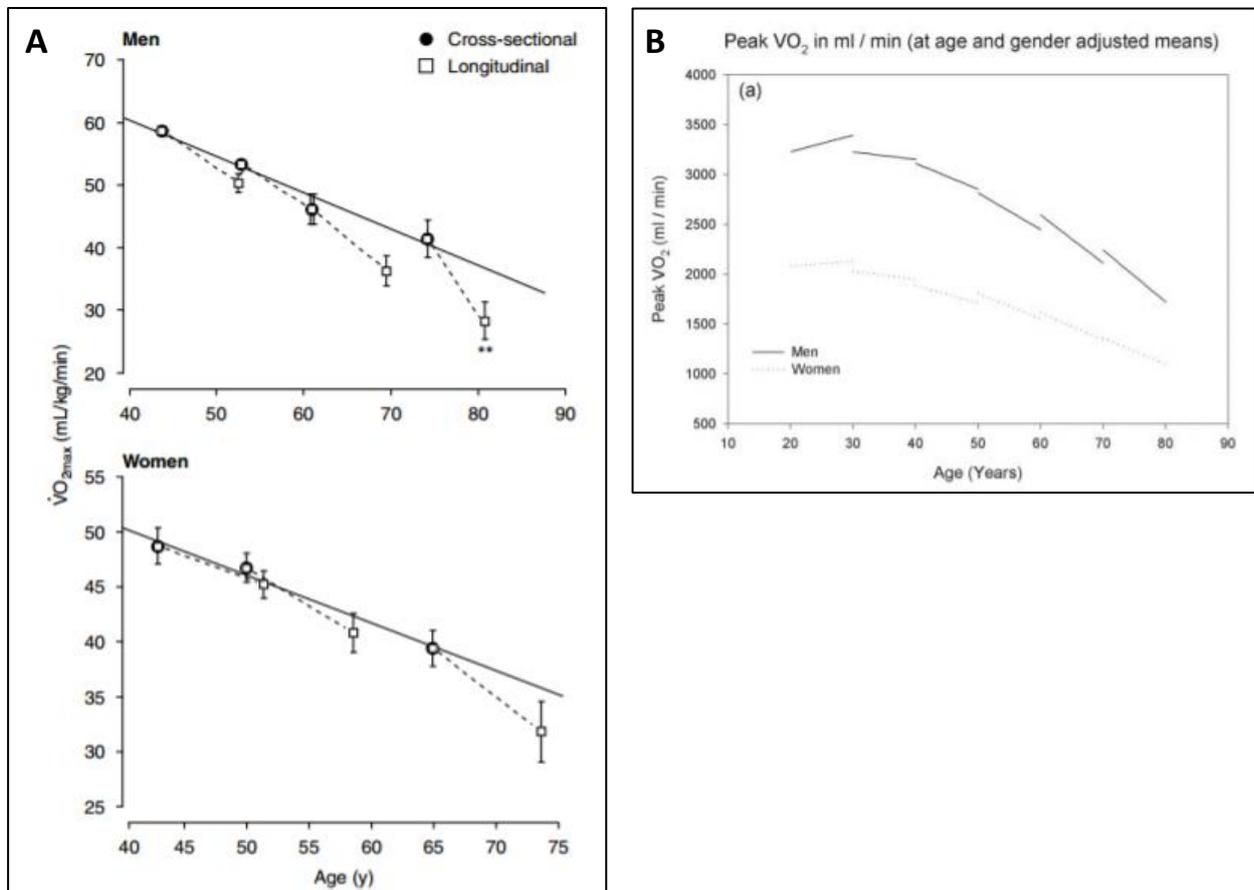
2005, Tanaka 2008, McMullan 2016). Ainsi, d'après la revue de Shvartz et Reibold en 1990 fondée sur 62 articles mesurant le VO_{2max} d'adultes en bonne santé aux Etats-Unis, au Canada et dans 7 pays européens, une classification des valeurs de VO_{2max} avec l'âge nous donne le tableau suivant :

Tableau 2 : Classification simplifiée du VO_{2max} ($ml.kg^{-1}.min^{-1}$) en fonction de l'âge et du sexe (adapté de Shvartz et Reibold 1990)

Sexe	Age (années)	Très mauvais	Moyen	Excellent
HOMME	20-24	< 32	44-50	>62
	25-29	< 31	43-48	>59
	30-34	< 29	41-45	>56
	35-39	< 28	39-43	>54
	40-44	< 26	36-41	>51
	45-49	< 25	35-39	>48
	50-54	< 24	33-36	>46
	55-59	< 22	31-34	>43
	60-65	< 21	29-32	>40
FEMME	20-24	< 27	37-41	>51
	25-29	< 26	36-40	>49
	30-34	< 25	34-37	>46
	35-39	< 24	32-35	>44
	40-44	< 22	30-33	>41
	45-49	< 21	28-31	>38
	50-54	< 19	26-29	>36
	55-59	< 18	24-27	>33
		60-65	< 16	22-24

Si certaines études transversales observent un déclin linéaire d'environ 7-10% de VO_{2max} tous les 10 ans (Wilson 2000, Mc Guire 2001, Pimentel 2003, Tanaka 2008), les études longitudinales montrent que ce déclin s'accélère avec l'avancée de l'âge, principalement chez les hommes (Hawkins 2003, Fleg 2005) (**Figure 5ab**).

Figure 5 : Cinétique d'évolution du VO_{2max} avec l'âge. Différence en fonction du sexe et du type d'études (longitudinales et transversales). D'après les études de Hawkins en 2003 (A) et de Fleg en 2005 (B).



Comme VO_{2max} dépend de la fréquence cardiaque maximale (FC_{max}), du volume d'éjection systolique (VES) et de la différence artério-veineuse en O_2 ($D_{av}O_2$), l'abaissement d'un de ces facteurs sans adaptation inverse des autres implique une diminution de la VO_{2max} (Ogawa 1992). Concernant la FC_{max} , son équation de calcul parle d'elle-même puisqu'elle est calculée en fonction de l'âge ($220 - \text{âge}$) et diminue indéniablement au cours du vieillissement (Astrand 1954, Wilson 2000, Gellish 2007, Tanaka 2008). Néanmoins, il est important de préciser que pour une intensité d'exercice donnée, une personne âgée aura une fréquence cardiaque à l'effort (relative à l'intensité) qui sera alors supérieure comparée à un plus jeune sujet (Fleg et al 1995). Et cela afin de compenser la diminution concomitante du VES à l'effort au cours du vieillissement.

En effet, avec l'âge, on observe un abaissement de la contractilité myocardique due aux diminutions du nombre de cardiomyocytes, de l'élasticité myocardique et de la réponse à la stimulation sympathique (Olivetti 1991, White 1994, Shih 2011). Le volume maximal d'éjection systolique pouvant

être atteint diminue donc avec l'âge (Ogawa 1992, Giada 1998, Hawkins 2003, Tanaka 2008). Toutefois, la diminution de la FC_{max} au cours du vieillissement reste le mécanisme principal de l'altération du débit cardiaque maximal à l'exercice, réduisant ainsi la consommation maximale d'oxygène (VO_{2max}) (Wilson 2000, Hawkins 2003).

Si la baisse de VO_{2max} est souvent associée à une augmentation des maladies cardiorespiratoires (Myers 2002, Pimentel 2003, Sui 2007), sa relation plus récente avec la masse et la force musculaire est d'une grande importance (Lovell 2009, Garber 2011). En effet, la diminution de la masse maigre et l'augmentation de la masse grasse jouent un rôle important dans la baisse de VO_{2max} (Hawkins 2003, Sanada 2004), et a contrario un maintien de la masse maigre et de la force musculaire semblent jouer positivement dans le maintien de VO_{2max} (Hawkins 2003, Garber 2011). Au niveau périphérique, la capacité oxydative musculaire et la densité capillaire semblent diminuer avec l'âge réduisant la consommation d'oxygène musculaire et par conséquent la différence artério-veineuse en O_2 lors de l'exercice (Ogawa 1992, Mc Guire 2001, Tanaka 2008). Cette réduction de la capacité oxydative musculaire dépend de plusieurs facteurs, et reste encore aujourd'hui au cœur de controverses. Nous les détaillerons dans les chapitres suivants.

4. Effet de l'activité physique sur le système cardio-respiratoire

Si l'âge impacte grandement les capacités cardio-respiratoires, l'exercice permet quant à lui certaines compensations. Les effets de l'activité physique sur le VO_{2max} et les risques cardiovasculaires ont été, au cours de ces dernières décennies, au cœur des recherches scientifiques que ce soit dans le domaine de la performance ou, plus récemment, de la santé.

Comme nous l'avons vu dans le tableau précédent (Tableau 2), les valeurs de VO_{2max} d'un jeune homme et d'une jeune femme non entraînés sont autour de $45 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ et $38 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ respectivement (Shvartz et Reibold 1990). Les athlètes de haut-niveau atteignent quant à eux des valeurs bien plus élevées de l'ordre de $80-85 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Le dernier record mondial se trouve être un jeune cycliste norvégien de 18 ans, Oskar Svendsen dont le VO_{2max} mesuré a atteint la valeur de $97,5 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (Fissac 2017). Généralement, les coureurs de fond, les cyclistes et les skieurs de fond présentent les VO_{2max} les plus élevées (Joussellin 1990).

L'entraînement de type aérobie (endurance) a, depuis longtemps, été utilisé dans l'amélioration de VO_{2max} à tout âge (Huang 2005, Milanovi 2015, Montero 2016). Il permet notamment une augmentation du VES et donc du débit cardiaque (Dogra 2012, Montero 2016), une augmentation de la densité capillaire ou de la qualité/quantité des mitochondries (Bigard 2007, Bori 2012). Néanmoins,

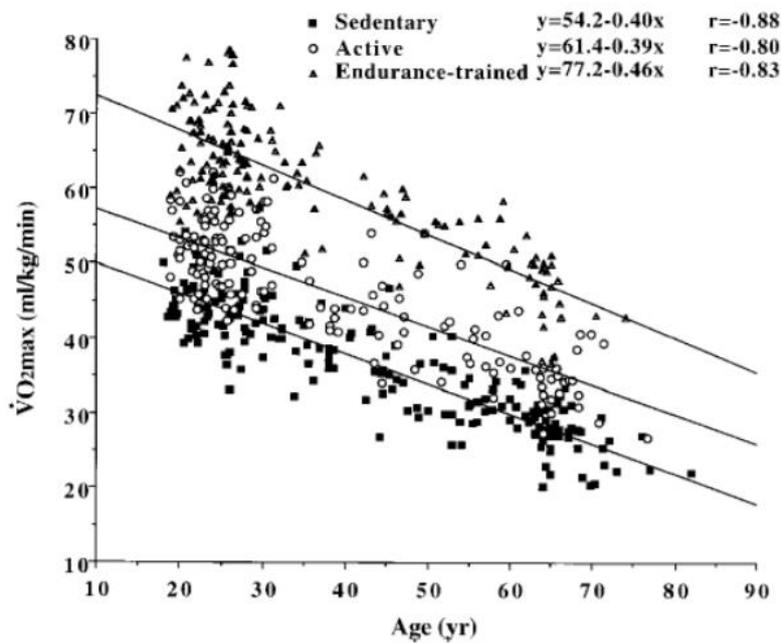
l'amélioration du VO_{2max} semble aujourd'hui plus effective avec une intensité d'exercice élevée que modérée, impliquant donc un facteur « intensité d'exercice » important (Swain 2005, Bacon 2013). Les études se sont donc plus récemment intéressées aux exercices de type intermittent, de type résistance ou aux combinés résistance/endurance afin d'en étudier les effets sur les performances aérobies et sur le VO_{2max} .

Que ce soit des entraînements en endurance ou en résistance, il semble clair aujourd'hui qu'aucun effet n'est possible quant à l'amélioration de la FC_{max} (Hawkins 2003, Ozaki 2013). L'augmentation du débit cardiaque maximal à l'entraînement semble donc principalement due à l'augmentation du VES_{max} , menant à une amélioration du VO_{2max} à l'entraînement chez les personnes âgées (Lovell 2009, Dogra 2012). D'autre part, les modifications au niveau périphérique ($D_{av}O_2$, densité capillaire, masse musculaire) semblent être aussi des contributeurs influents dans les changements de VO_{2max} avec l'âge (Ozaki 2013).

Actuellement nous savons que les entraînements aérobies ont un impact positif sur le VO_{2max} en améliorant le VES_{max} , la densité capillaire ou encore l'efficacité mitochondriale (Dogra 2012, Ozaki 2013, Montero 2016) ainsi qu'en diminuant les risques cardiovasculaires (Huang 2005). Concernant les entraînements en résistance ayant une intensité d'exercice élevée, il existe encore trop de controverse pour conclure à un effet sur VO_{2max} , certains observant une augmentation (Shaw 2005) et d'autres n'en observant aucune (Ozaki 2013). Il semble tout de même que l'effet bénéfique d'un entraînement en résistance sur VO_{2max} soit possible lorsque le VO_{2max} initial (avant entraînement) est faible (Ozaki 2013). De plus, les entraînements de type résistance augmentent la masse et la force musculaire (cf. chapitre précédent) et ont donc un rôle important sur VO_{2max} , mais aussi sur les maladies cardiovasculaires (Garber 2011). Il est d'ailleurs possible que cette augmentation de la masse musculaire empêche de visualiser l'amélioration des valeurs de VO_{2max} observées dans les études, VO_2 étant principalement exprimé en fonction du poids du sujet (Ozaki 2013).

Finalement l'exercice, qu'il soit du type endurance ou résistance, a un effet positif sur le système cardio-respiratoire (Garber 2011), améliorant le VO_{2max} , le VES ou encore la force et la masse musculaire. La diminution des risques de maladies cardiovasculaires observée est aussi un fait indéniable et important concernant le vieillissement. Malgré tout, le déclin des capacités cardio-respiratoires avec l'âge ne pourra être compensé par l'entraînement (Wilson 2000, Hawkins 2003, Pimentel 2003, Fleg 2005), mais l'activité physique, si elle est adaptée, permettra tout de même de garder des capacités cardio-respiratoires plus efficaces à tout âge (Wilson 2000, Hawkins 2003, Pimentel 2003, Fleg 2005) (**Figure 6**). Le cas isolé de Robert Marchand, suivi dans notre laboratoire, améliorant son VO_{2max} (+13%) de 101 ans à 103 ans, en est d'ailleurs un bon exemple (Billat 2017).

Figure 6 : Déclin du $\dot{V}O_{2max}$ chez des sujets entraînés, actifs ou sédentaires au cours du vieillissement (Wilson 2000)



SYNTHESE

sur le système cardio-respiratoire

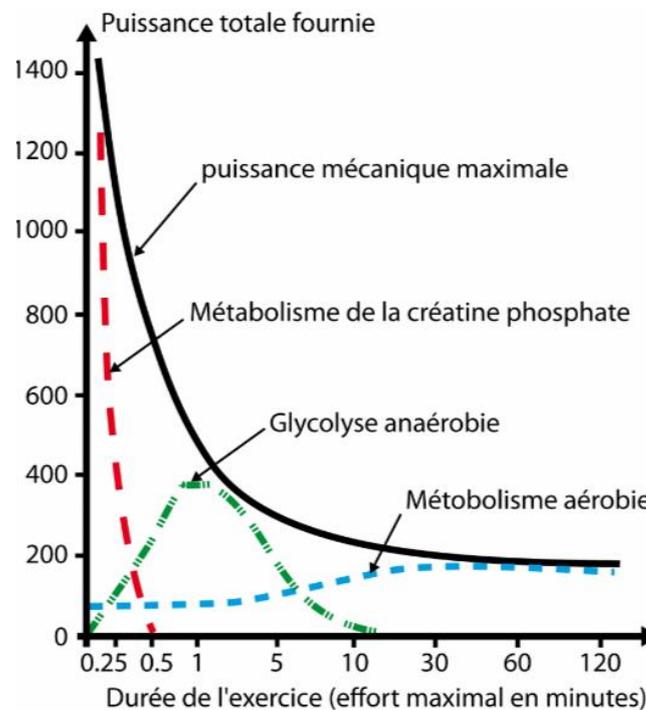
Au cours du vieillissement, on observe un déclin des capacités cardiorespiratoires, représenté principalement par une diminution du $\dot{V}O_{2max}$ et par une augmentation des maladies cardiovasculaires. Le déclin du $\dot{V}O_{2max}$ moyenné à 10% par décennie dès l'âge de 50 ans aurait tendance à s'accélérer en fin de vie, et bien que cela soit inéluctable, l'activité physique est en mesure d'améliorer la capacité cardiorespiratoire à tout âge. Si les exercices de type aérobie sont depuis longtemps les plus usités pour augmenter le $\dot{V}O_{2max}$, les exercices plus intenses sont actuellement au cœur des études afin d'évaluer les effets positifs du gain de force et de masse musculaire sur les capacités cardiorespiratoires.

II. LES DIFFERENTS METABOLISMES ENERGETIQUES

L'adénosine triphosphate (ATP) est la molécule énergétique du vivant, indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Lors de l'exercice, l'ATP est hydrolysée ($ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi + H^+ + \text{Energie}$) au niveau des têtes de myosine produisant ainsi l'énergie permettant le glissement des myofilaments d'actine sur ceux de myosine et in fine la contraction musculaire.

Notre corps et plus précisément nos muscles ont donc besoin de ce carburant qu'est l'ATP. Trois mécanismes permettent la régénération d'ATP : le métabolisme de la phosphocréatine (anaérobie alactique), le métabolisme glycolytique (anaérobie lactique) et le métabolisme oxydatif (aérobie). Ces voies fonctionnent simultanément mais dans des proportions qui diffèrent suivant l'intensité de l'activité physique réalisée (**Figure 7**).

Figure 7 : Courbes des filières énergétiques (inspiré d'Howald 1974)

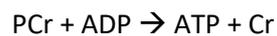


A. Métabolisme anaérobie alactique

Lors de l'initiation de la contraction musculaire ou lors d'un exercice très intense, la cellule musculaire requiert immédiatement de l'ATP. Malheureusement, les réserves d'ATP présentes dans le muscle ne permettent une contraction que de 2 à 3 secondes. En effet, en raison de sa durée de vie

très courte (de l'ordre de la minute), l'ATP ne se stocke pas dans la cellule et nécessite donc un perpétuel renouvellement (Bongbele 1990).

Ainsi, une fois que les infimes réserves d'ATP sont utilisées par les cellules musculaires, un autre mécanisme se met en place instantanément afin de régénérer l'ATP. Ce mécanisme fait intervenir la phosphocréatine (PCr), une molécule riche en énergie, dont le rôle est de fournir un groupe phosphate à l'adénosine diphosphate ADP (formée par l'hydrolyse de l'ATP), afin de reconstituer de l'ATP par la réaction :



(enzyme : créatine kinase cytosolique)

Dans les cellules musculaires, cette réaction est catalysée par l'enzyme de la créatine kinase musculaire (MM-CK) (Wallimann 1978, Ventura-Clapier 1998). Elle est efficace dès le début de l'exercice pour des intensités maximales et ne nécessite pas d'oxygène (anaérobie). Ce métabolisme permet de subvenir aux besoins immédiats des cellules musculaires (ou du cerveau), néanmoins les stocks de PCr sont épuisés très rapidement (moins de 10-20 secondes) (Howald 1974, Wilmore 2017), bien qu'ils puissent être resynthétisés. Si la contraction musculaire continue, l'organisme recourt alors à d'autres voies métaboliques pour reconstituer l'ATP plus durablement, mais l'intensité de l'activité devra néanmoins diminuer.

B. Métabolisme anaérobie lactique

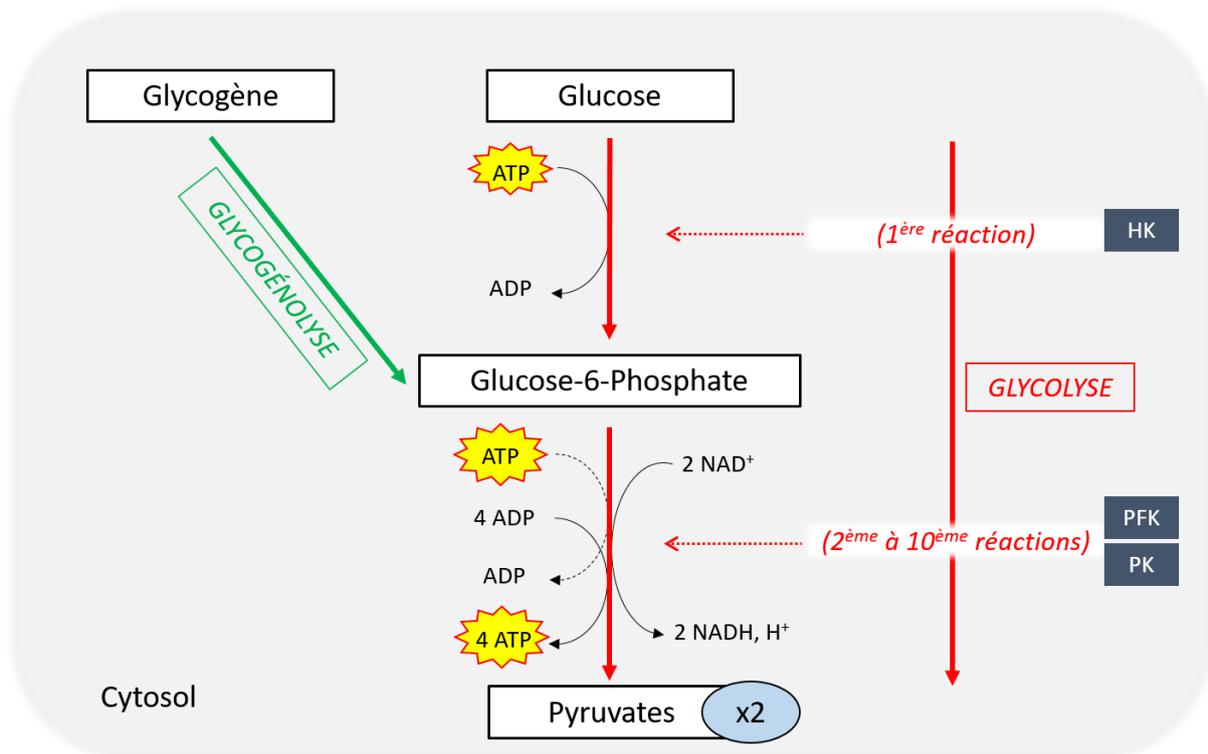
1. Généralités

Le glucose, molécule à six carbones, est considéré comme la source principale du métabolisme énergétique de l'organisme. Lors de l'exercice intense et de durée moyenne (quelques minutes), le métabolisme de la glycolyse anaérobie devient le mécanisme prépondérant de la régénération de l'ATP. La glycolyse est utilisée au niveau du cytosol de la cellule musculaire afin de former de l'ATP à partir de la dégradation du glucose provenant du plasma sanguin. Cette glycolyse passe par une première étape, catalysée par l'enzyme Héxokinase (HK), permettant la formation d'un important métabolite intermédiaire, le glucose-6-phosphate (G6P), ne pouvant sortir de la cellule musculaire et qui, de par sa dégradation, permet la synthèse d'ATP (**Figure 8.1**).

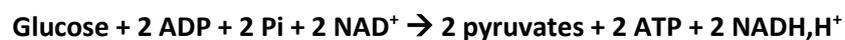
La formation de G6P peut aussi se réaliser grâce à la forme de stockage du glucose : le glycogène. Ce glycogène est présent dans le foie (20% du glycogène total), et permet la régulation de la glycémie et

l'apport en glucose au cerveau, mais il est en plus grande quantité localisé dans le muscle (80%) (Wilmore 2017). Dans ces derniers, le glycogène se dégrade en glucose-6-phosphate (G6P) par le processus de la glycogénolyse (Wilmore 2017). La différence notable est que la dégradation du glucose en G6P nécessite de l'énergie (1 ATP) tandis que la dégradation du glycogène en G6P n'en requiert pas. (Figure 8.1).

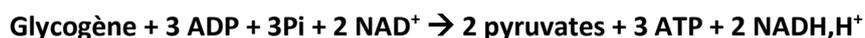
Figure 8.1 : Bilan énergétique de la glycolyse à partir du glucose et du glycogène.



Après pas moins de 10 réactions faisant intervenir diverses enzymes telles que la Phosphofructokinase (PFK) et la pyruvate kinase (PK), le bilan simplifié de la glycolyse anaérobie est le suivant :



ou :



Ainsi, bien que l'ATP soit produit rapidement (Brooks 1996, Spriet 2000, Wilmore 2017) et sans besoin d'approvisionnement en dioxygène, le rendement énergétique est relativement faible, car seulement 2 ATP sont formées par molécule de glucose (ou 3 ATP par molécule de glycogène hydrolysé) (Wilmore 2017).

Néanmoins, il est indispensable d'étudier le devenir des produits de cette glycolyse, afin de prendre en compte la capacité énergétique totale des substrats glucidiques.

2. Formation et utilisation du lactate

Dans le cytosol des cellules musculaires, en fonction de l'intensité de l'exercice (exercices intenses) et du type de fibres musculaires (type IIa, IIb), la glycolyse mène à la formation de lactate. En effet, la régénération du coenzyme Nicotinamide Adénine Dinucléotide NAD^+ , indispensable à la glycolyse, est assurée par la réduction du pyruvate en lactate suivant la réaction :



(enzyme : lactate déshydrogénase)



(NB : au pH intramusculaire la molécule d'acide lactique est entièrement dissociée en un proton H^+ et en un anion = le lactate) (Cazorla 2001, Wilmore 2017).

Cette réaction est catalysée par l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH). La LDH a 5 iso-enzymes, composées de 2 principales sous-unités : M (muscle) prédominantes dans les muscles squelettiques et favorisant la réduction du pyruvate en lactate, ainsi que la sous-unité H (heart) favorisant la réaction inverse et se retrouvant majoritairement dans le cœur. La LDH musculaire est un marqueur de l'utilisation de la glycolyse (Singh 1968, Kaczor 2006).

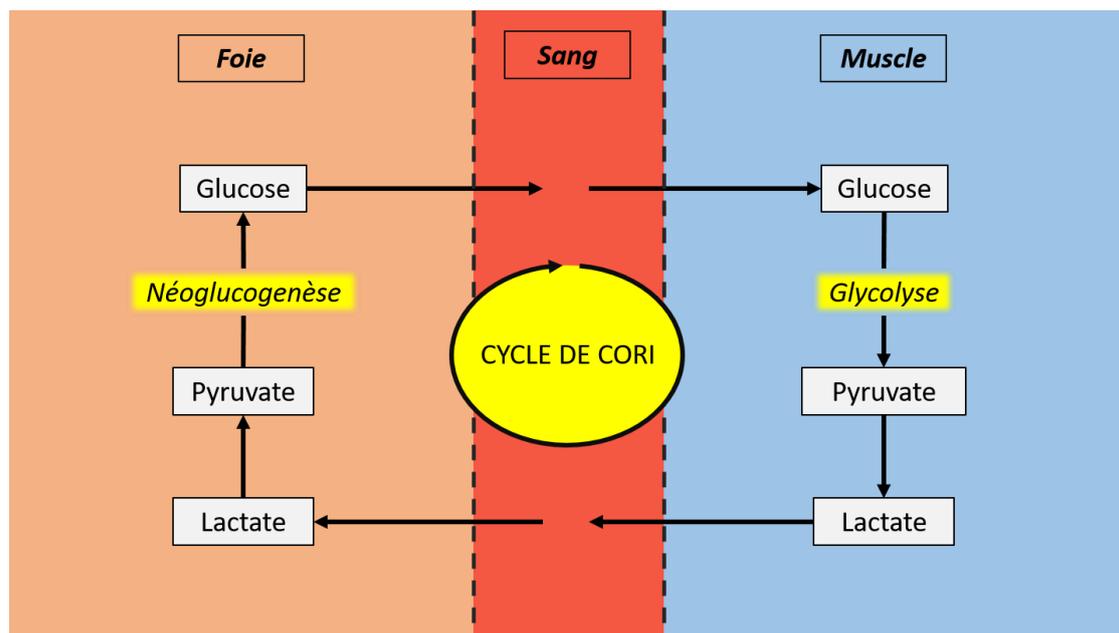
Une fois produit, le lactate s'accumule dans le cytosol, puis est transporté dans les capillaires sanguins (Brooks 1986, Gladden 2004, Philp 2005). Plusieurs mécanismes sont alors possibles permettant son utilisation (**Figure 8.2**) :

- une partie du lactate va être transporté vers le cœur (myocarde), où il sera oxydé (réaction inverse faisant intervenir la LDH-H) afin de reformer du pyruvate utilisé pour fournir de l'énergie par l'intermédiaire du métabolisme aérobie (Brooks 1986, Gladden 2004, Philp 2005, Poortmans et Boisseau 2017) ;
- le lactate peut être oxydé par les différents groupes musculaires les moins sollicités, et possédant principalement des fibres lentes, mais sera aussi capté par le cerveau (Ide 2000, Quistorff 2008, Van Hall 2009, Poortmans et Boisseau 2017) et les neurones (Pellerin 2005, Philp 2005) mais principalement lors de la récupération post-exercice (Brooks 1986, Philp 2005).

- une quantité de lactate (10 à 20%) sera utilisée pour la néoglucogénèse hépatique, permettant la synthèse de glucose dans le foie à partir, ici, du lactate, glucose pouvant alors être transporté par le sang et réutilisé par les cellules musculaires (Brooks 1986, Gladden 2004, Philp 2005, Poortmans et Boisseau 2017) (cycle de Cori **Figure 8.2**) ;
- une infime partie du lactate sera éliminée par les reins (Poortmans et Boisseau 2017).

Le transport du lactate à travers l'organisme, permettant son utilisation, s'effectue grâce à des transporteurs spécifiques : les MCT (monocarboxylate transporteur). Entre autres, MCT1, principalement présent dans les fibres musculaires de type oxydatives (type I) ainsi que dans le cœur, facilite le captage du lactate présent dans le milieu extracellulaire (Halestrap 1999, Bonen 2001), tandis que MCT4, prédominant dans les fibres musculaires glycolytiques (type II), participe à l'extraction du lactate vers le milieu extracellulaire (Halestrap 1999, Bonen 2001). Nous aborderons plus précisément ces transporteurs dans la suite de ce chapitre.

Figure 8.2 : Réutilisation du lactate lors du cycle de Cori (inspiré de Cazorla 2001, Gladden 2004).



Contrairement aux idées reçues et encore trop présentes dans le monde du sport, le lactate n'est donc pas un déchet toxique pour le muscle, mais bel et bien un métabolite intermédiaire pouvant être utilisée comme substrat énergétique (Cazorla 2001, Brooks 2002, Gladden 2004, Philp 2005), et son accumulation durant l'exercice ne serait pas due au manque d'oxygène (Gladden 2004). Les

responsables de l'acidose musculaire sont en réalité les protons (H^+) formés lors des différentes réactions anaérobies que nous venons de voir.

La lactatémie que l'on mesure à l'exercice est la concentration de lactate dans le sang. Elle résulte de la différence entre l'apparition du lactate (production musculaire) et sa disparition (oxydation, excrétion). Sa forte corrélation avec la production de proton par la voie anaérobie en fait un indicateur indirect de l'acidose musculaire et de la sollicitation de la glycolyse anaérobie dans la resynthèse d'ATP (Korhonen 2005, Hanon 2010).

Bien que l'entraînement engendre principalement une concentration sanguine de lactate plus faible à tous niveaux relatifs d'exercice sous-maximal (résultat d'une meilleure clairance), la lactatémie maximale pouvant être atteinte peut tout de même être augmentée indiquant ainsi une meilleure résistance à l'acidose musculaire, facteur limitant de l'exercice (Poortmans et Boisseau 2017, Wilmore 2017). Si la valeur de repos de la concentration de lactate sanguine est d'environ 1 mmol.L^{-1} chez l'homme, la concentration maximale peut aller jusqu'à 22 mmol.L^{-1} lors d'exercice intense tel que le 400 mètres (Hanon 2010, Poortmans et Boisseau 2017)

C. Métabolisme aérobie

Comme nous venons de le voir, les différentes voies métaboliques anaérobies constituent les principales sources d'énergie lors des premières minutes d'exercice de haute intensité. En revanche, lors d'exercices de longue durée et d'intensité beaucoup plus faible, le métabolisme aérobie prédomine pour la resynthèse d'ATP. Ce dernier se déroule dans les mitochondries des cellules musculaires (squelettiques ou cardiaques) et nécessite du dioxygène (O_2). L'ensemble des substrats énergétiques (lipides, glucides et protéines) peut être mobilisé et le rendement en ATP est très élevé. Néanmoins, la nécessité de l'adaptation du système cardiovasculaire et respiratoire pour répondre à la demande en O_2 en fait un métabolisme plus lent à mettre en place.

1. La mitochondrie

La mitochondrie est un organite cellulaire jouant un rôle primordial dans la production énergétique, nécessaire au bon fonctionnement des cellules. Elle contribue en effet à la synthèse d'ATP grâce à divers processus tels que le cycle de Krebs, la phosphorylation oxydative ou la bêta-oxydation,

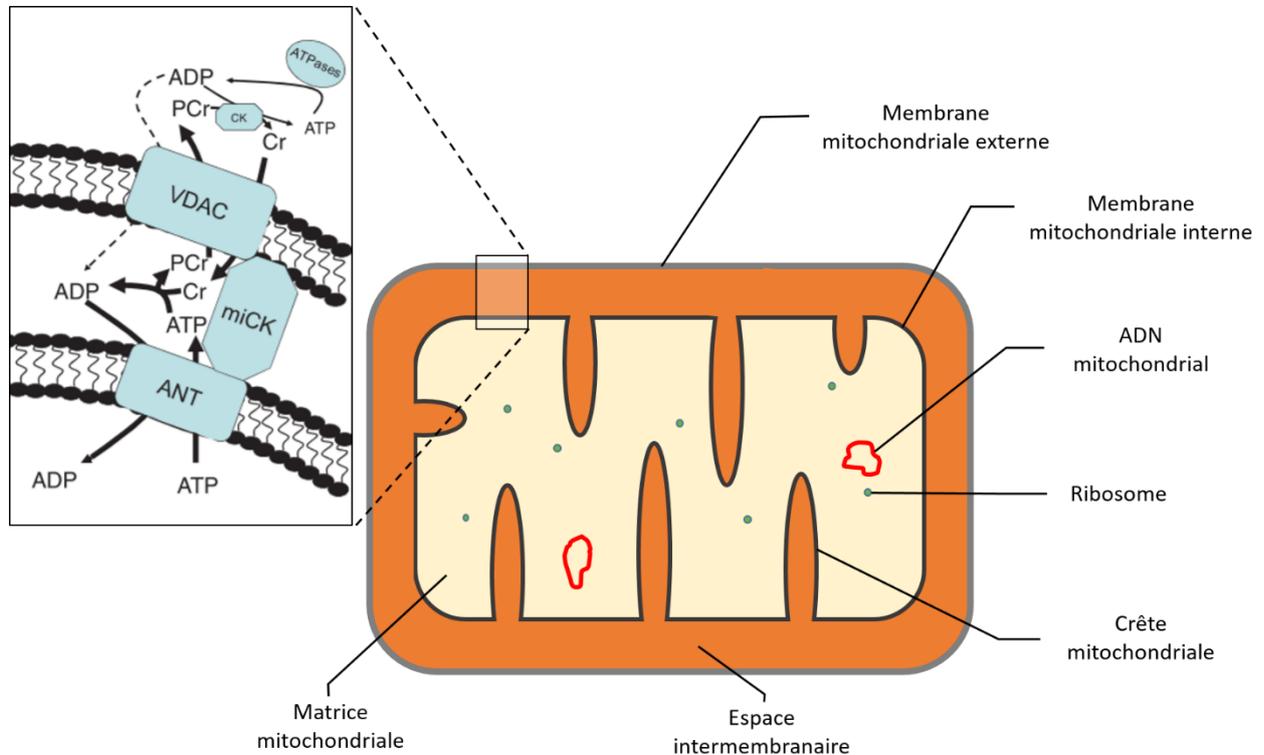
que nous détaillerons plus tard. Les muscles squelettiques contiennent une quantité variable de mitochondries en fonction de leur rôle et de leur typologie.

Cet organite présent dans le cytosol de la cellule se compose (**Figure 8.3**) :

- d'une membrane mitochondriale externe constituée d'une bicouche lipidique, de protéines (environ 60% de protéines et 40% de lipides) et de cholestérol (Rothfield 1971). Cette membrane possède des porines, protéines transmembranaires lui donnant la propriété d'être perméable pour les molécules de petites tailles (<10 k Dalton), ainsi que diverses enzymes et récepteurs protéiques. Les porines, également appelées « Voltage-dependent anion channels » (VDAC) facilitent les échanges d'ions et de molécules entre le cytosol de la cellule et l'espace intermembranaire mitochondrial. Ces porines sont notamment impliquées dans le transport de l'ATP, de l'ADP, du pyruvate et d'autres métabolites (Saks 2007, Timohhina 2009, Perry 2012) ;
- d'une membrane mitochondriale interne formée de crêtes dirigées vers l'intérieur de la mitochondrie. A la différence de la membrane externe, elle se compose d'une majorité de protéine (70 à 80%), étant principalement des complexes protéiques et des transporteurs. Cette membrane interne étant beaucoup moins perméable, la plupart des molécules et des ions utilisent des transporteurs pour la traverser. Outre les complexes protéiques de la chaîne respiratoire que nous verrons par la suite, cette membrane comporte le transporteur ANT (adenine nucleotide translocator) permettant le passage de l'ATP de la matrice vers l'espace intermembranaire et le passage de l'ADP dans le sens inverse (Saks 2007, Timohhina 2009, Perry 2012) ;
- d'un espace intermembranaire délimité par les deux précédentes membranes. Il contient notamment un grand nombre de protons (H^+) ayant un grand rôle dans la fourniture énergétique, ainsi que des enzymes utilisés dans le transfert d'énergie telles que l'adénylate kinase (AK) et la créatine kinase mitochondriale (mi-CK) (Saks 2007, Timohhina 2009, Perry 2012) ;
- d'une matrice mitochondriale, espace interne de la mitochondrie contenant les enzymes impliquées dans les processus énergétiques (cycle de Krebs, bêta-oxydation, cétogenèse...) ainsi que son propre ADN mitochondrial et des éléments nécessaires à la synthèse protéique (ribosomes et ARN mitochondrial). L'ADN mitochondrial est aujourd'hui entièrement

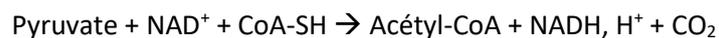
séquencé et son génome code pour 22ARN de transfert, 2 ARN ribosomiaux et 13 protéines (principalement celles de la chaîne respiratoire) (Sévin et Girard 1999) .

Figure 8.3 : Structure mitochondriale (inspiré de Perry 2012)



2. Glycolyse aérobie et mécanismes mitochondriaux

La glycolyse, dégradation du glucose, mène à la formation de pyruvate cytosolique. Lors de la glycolyse anaérobie, ce pyruvate est transformé en lactate afin de reformer les ions NAD^+ nécessaires à la poursuite de cette glycolyse. Cependant, lorsque la voie aérobie se met en place, le pyruvate a une autre finalité : il entre dans la mitochondrie où il subit une décarboxylation oxydative afin d'être transformé en acétyl-coenzyme A (plus communément nommé acétyl-CoA), réaction catalysée par la pyruvate déshydrogénase :

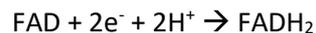
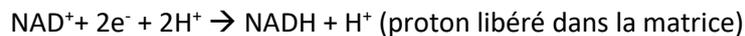


La molécule d'acétyl-CoA, qui fait le lien entre la glycolyse et la voie aérobie, est ensuite oxydée dans le cycle de Krebs.

a) Le cycle de Krebs

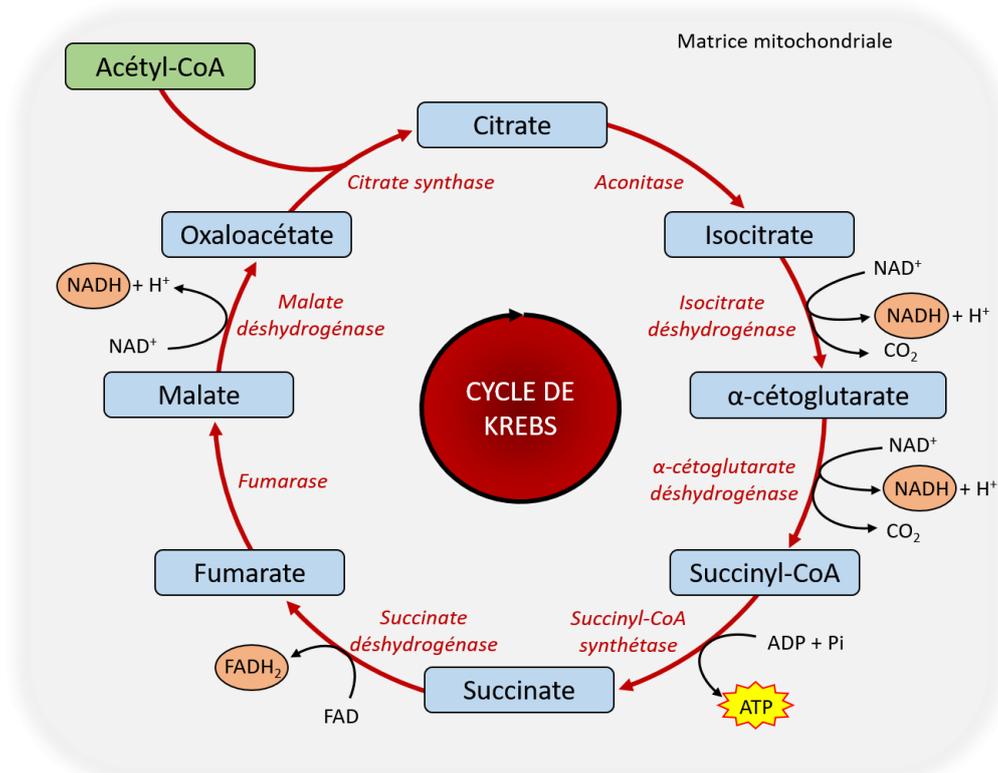
Le cycle de Krebs (ou cycle de l'acide citrique) se produit dans la matrice mitochondriale. Il représente l'étape finale du catabolisme oxydatif du glucose, des acides gras ou des acides aminés, ainsi que l'étape intermédiaire du métabolisme aérobie.

Ce cycle se compose d'un ensemble de réactions biochimiques (**Figure 8.4**) initiées par l'arrivée de l'acétyl-CoA et libérant hydrogène (H), carbone (C) et ATP. Grâce à la présence d'oxygène, le carbone ainsi produit est capté et transformé en dioxyde de carbone (CO₂), qui sera transporté par la circulation sanguine vers les poumons où il sera extrait. Les protons et électrons issus de l'hydrogène seront quant à eux captés par les coenzymes Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) et Flavine adénine dinucléotide (FAD), formant des coenzymes réduits (NADH et FADH₂) utilisés pour la synthèse d'ATP lors de la phosphorylation oxydative :



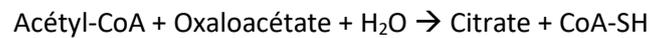
Le bilan d'un tour de cycle de Krebs est de 3 NADH, 1 FADH₂ et 1 ATP formé par acétyl-CoA.

Figure 8.4 : Les différentes étapes et réactions du cycle de Krebs (en rouge : les enzymes catalysant les réactions).



Parmi les huit réactions enzymatiques qui composent le cycle de Krebs, nous nous pencherons principalement sur la première faisant intervenir la citrate synthase.

La citrate synthase est une enzyme localisée dans la matrice mitochondriale catalysant la réaction suivante, première étape du cycle de Krebs (Wiegand 1986) :



Cette réaction irréversible constitue un point de contrôle du flux global du cycle de Krebs. L'activité enzymatique de la citrate synthase est communément utilisée comme marqueur de la quantité de mitochondries d'un tissu (Figueredo 2009 aging impair, Larsen 2012) mais aussi comme référence pour les dysfonctions mitochondriales (Wibom 2002). Comme nous le verrons dans les prochains chapitres, l'activité de la citrate synthase diminue avec l'âge, mais les effets de l'entraînement permettent une augmentation de son activité.

b) La phosphorylation oxydative

La fonction principale du cycle de Krebs, nous l'avons vu, n'est pas la formation directe d'ATP, mais la production d'intermédiaires énergétiques NADH et FADH₂ permettant le transport d'électrons vers la chaîne respiratoire, processus initial de la phosphorylation oxydative.

La chaîne respiratoire se constitue d'un ensemble de 4 complexes protéiques (I à IV) organisés sur la membrane interne de la mitochondrie (**Figure 8.5**). Les électrons provenant du cycle de Krebs (et de ses intermédiaires tels que NADH et FADH) sont transportés de complexe en complexe via une cascade de réactions d'oxydoréduction. Au niveau des complexes I, III et IV, l'énergie fournie par ces électrons permet alors la translocation des protons (H⁺) de la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire.

Ce mouvement des protons et leur accumulation dans l'espace intermembranaire mitochondrial a pour conséquence la création d'un gradient électrochimique à travers la membrane. Celle-ci étant normalement imperméable aux protons, ces derniers sont alors dirigés vers une protéine membranaire : l'ATP synthase, dans le but de rééquilibrer le gradient électrochimique ainsi créé (**Figure 8.5**). Le flux de protons passant par l'ATP synthase (équivalent à une turbine moléculaire) fournit alors l'énergie nécessaire à la phosphorylation de l'ADP en ATP (Pedersen 2000). Chaque molécule de NADH fournit 3 ATP, tandis que celle de FADH₂ fournit 2 ATP.

En plus de la synthèse d'ATP, la phosphorylation oxydative aboutit à la formation d'eau (H₂O). En effet, à la fin de la chaîne respiratoire, au niveau du complexe IV, les électrons de basses énergies ainsi libérés

vont se lier avec les protons (H^+) et l'oxygène (O_2) présent dans la matrice mitochondriale suivant la réaction :

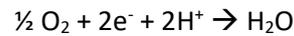
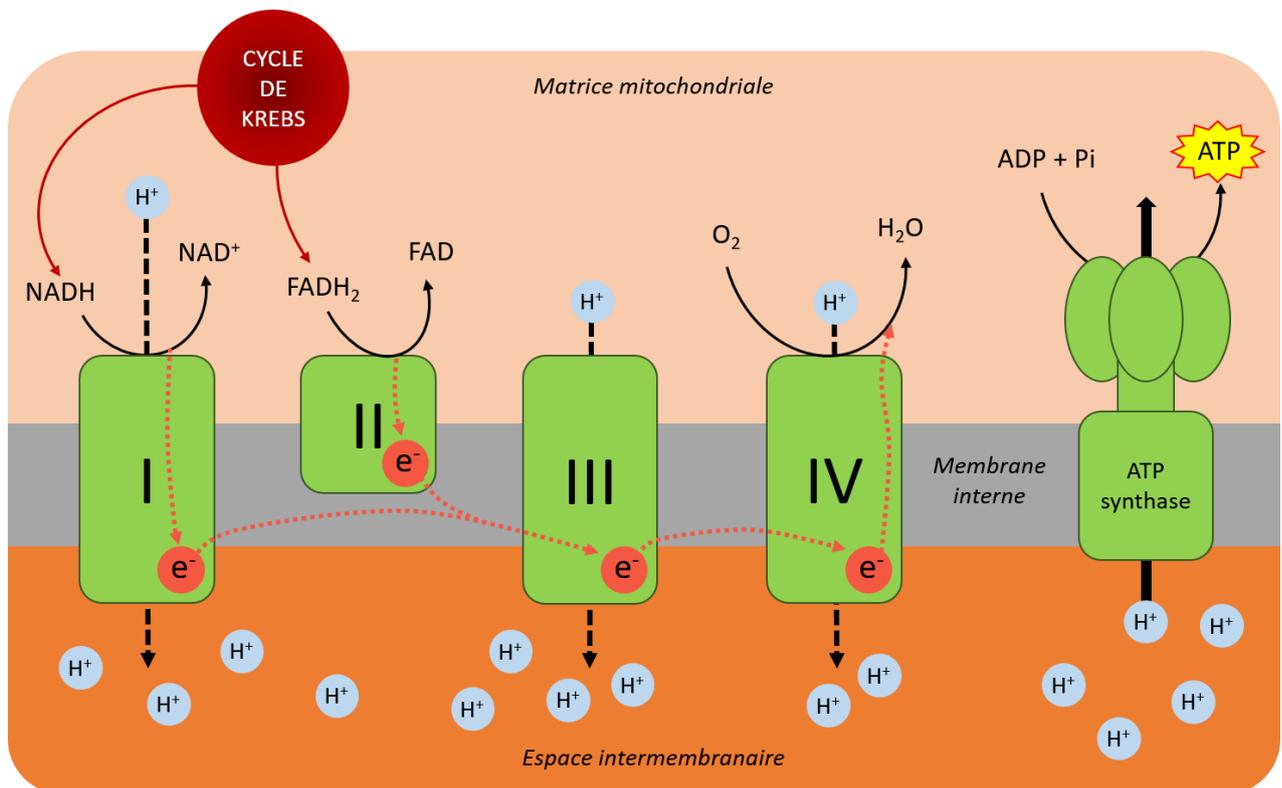


Figure 8.5 : Schéma simplifié de la phosphorylation oxydative, représentant la chaîne respiratoire et ses complexes protéiques (I à IV) ainsi que le mécanisme de synthèse d'ATP.



Ce métabolisme aérobie requiert un nombre élevé de réactions chimiques, nécessitant un temps de mise en place et un approvisionnement en oxygène important. Néanmoins, le bilan final théorique de la glycolyse aérobie est de 38 ATP par molécule de glucose* contre seulement 2 ATP pour la glycolyse anaérobie. De plus, cette voie aérobie a l'avantage de permettre l'utilisation de différents substrats énergétiques provenant des lipides et des protéines.

* Glycolyse : 2 ATP

2 NADH, H^+ provenant de la glycolyse : 6 ATP

2 NADH, H^+ provenant de la décarboxylation oxydative de 2 pyruvates en acétyl-CoA : 6 ATP

Les deux acétyl-CoA faisant un tour du cycle de Krebs : $2 * (3 NADH, H^+ + 1 FADH_2 + 1 ATP) = 24 ATP$

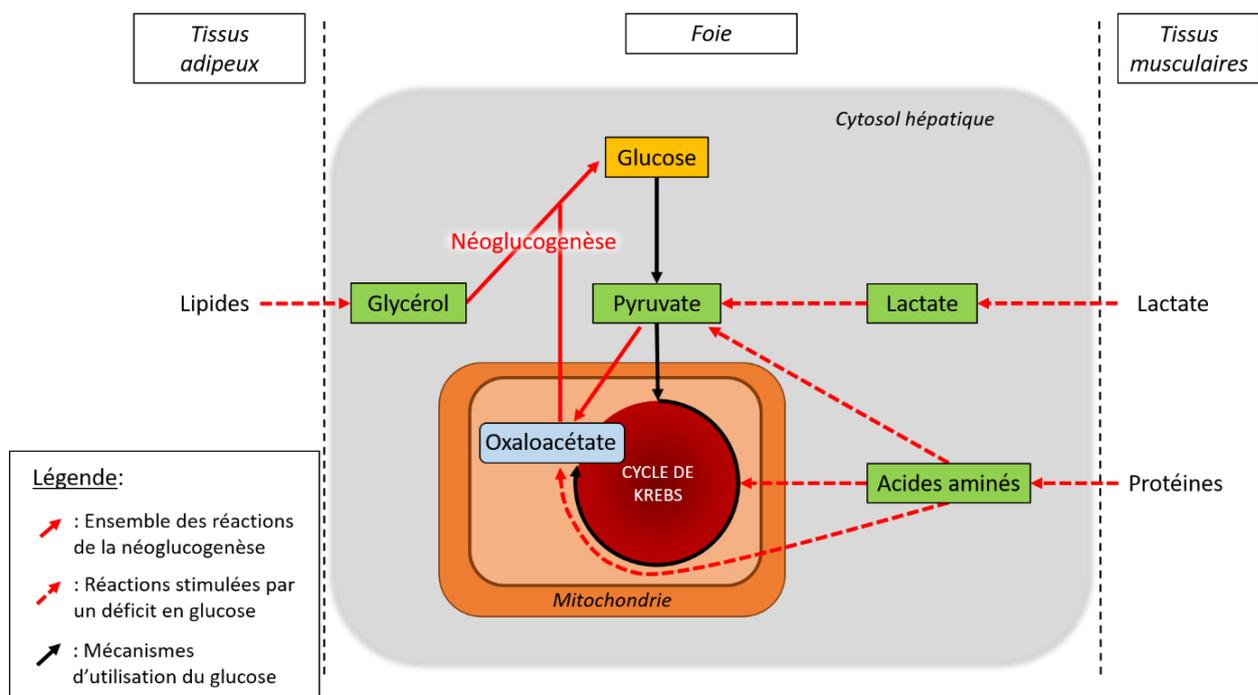
c) Néoglucogénèse

Comme nous avons pu le voir, le glucose permet un apport en énergie conséquent pour l'organisme. Pendant l'exercice ou la récupération, les stocks de glucose peuvent être resynthétisés afin de perpétuer la fourniture énergétique, c'est la néoglucogénèse (**Figure 8.6**).

La néoglucogénèse est la synthèse de glucose, se réalisant dans le foie, à partir de substrats non glucidiques. Ses précurseurs peuvent être :

- le lactate, comme vu précédemment par le cycle de Cori ;
- le pyruvate et les métabolites intermédiaires du cycle de Krebs (un ensemble de réactions passant par la formation d'oxaloacétate et son utilisation mènent à la resynthèse de glucose) ;
- le glycérol issu des lipides ;
- ou encore les acides aminés issus des protéines, menant à la formation des intermédiaires de la néoglucogénèse, tels que le pyruvate ou l'oxaloacétate.

Figure 8.6 : Schéma simplifié de la formation de glucose dans le foie à partir de différents substrats non glucidiques (néoglucogénèse).



Si la glycolyse engendre la production d'énergie, la néoglucogénèse, quant à elle, permet sa conservation. La régulation correcte de ces deux mécanismes est indispensable et dépend des besoins énergétiques de l'organisme.

3. Substrats lipidiques du métabolisme aérobie

a) Catabolisme lipidique

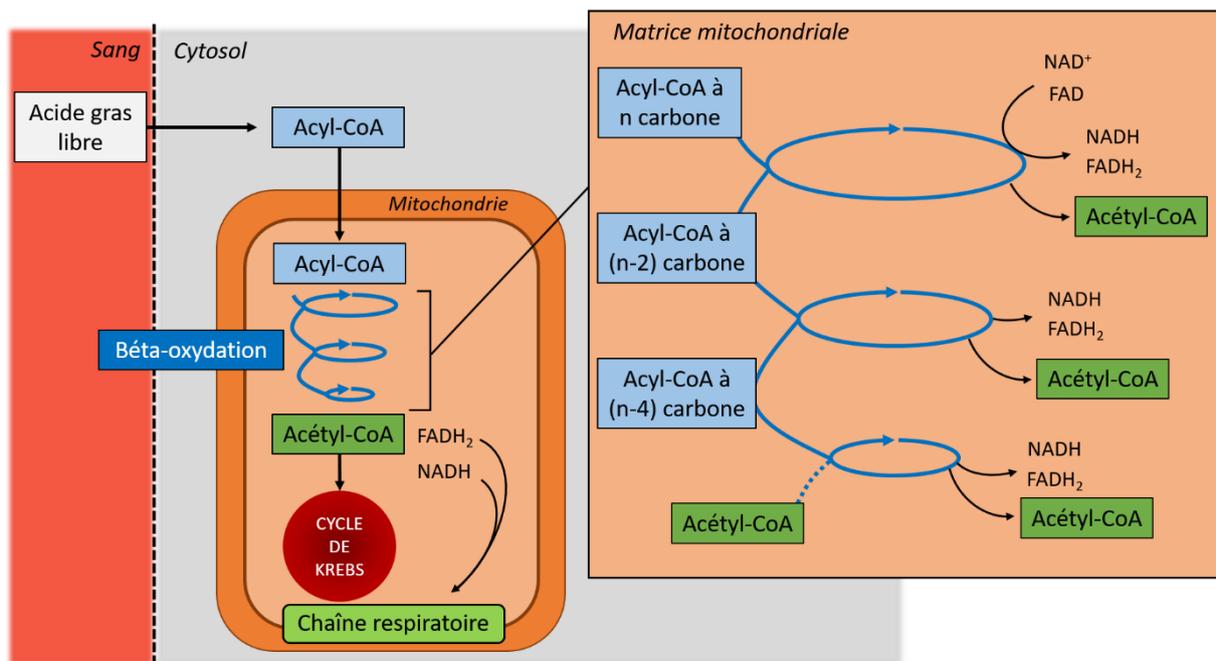
D'autres substrats interviennent dans la formation de l'acétyl-CoA, c'est le cas des lipides, ou plus précisément des acides gras issus de la lipolyse des lipides. En effet, l'exercice ou le jeûne stimulent et activent la lipolyse des triglycérides présents dans les adipocytes (cellules du tissu adipeux), menant à la libération d'acides gras libres et de glycérol dans la circulation sanguine.

Chaque acide gras libre peut alors entrer dans le cytosol des cellules et être activé en acyl-CoA. L'acyl-CoA ainsi formé est transporté dans la mitochondrie pour être ensuite dégradé grâce à la Bêta-oxydation en plusieurs acétyl-CoA (Saks 2009).

Cette Bêta-oxydation (ou Hélice de Lynen) consiste en une répétition de 4 réactions ayant lieu dans la matrice mitochondriale. Chaque cycle de réactions diminue de deux carbones la longueur de chaîne de l'acyl-CoA et produit : un acétyl-CoA, un coenzyme réduit NADH et un coenzyme réduit FADH₂ (Saks 2009) (Figure 8.7).

Chaque acétyl-CoA formé pourra rejoindre le cycle de Krebs, et les coenzymes réduits NADH et FADH₂ la chaîne respiratoire, afin de perpétuer la fourniture énergétique de l'organisme.

Figure 8.7 : Mécanisme de bêta-oxydation des acides gras.



Selon le type de molécule dégradée (glucose ou acides gras) et la longueur de chaîne de carbone, le nombre d'acétyl-CoA fournis au cycle de Krebs et de coenzymes réduits intervenant dans la chaîne respiratoire est différent. A titre de comparaison, le glucose fournit 2 acétyl-CoA et 4 NADH provenant des 2 pyruvates issus de la glycolyse, synthétisant au final 38 ATP théorique. Tandis que la bêta-oxydation d'un acide gras à 16 carbones (ex : acide palmitique) fournit 8 acétyl-CoA, 7 NADH et 7 FADH₂, synthétisant au final 129 ATP.

En conséquence, les acides gras génèrent une quantité supérieure d'ATP que les oses lors de l'utilisation du métabolisme aérobie, et cela, même à nombre de carbone équivalent. Le rendement étant plus important pour les lipides, l'organisme privilégie donc ce substrat lors d'exercice peu intense et ne nécessitant pas un apport immédiat et intense en ATP.

A noter tout de même que, dans la majorité des exercices, à la fois les lipides et les glucides interviennent dans la synthèse d'ATP, mais les proportions diffèrent fortement selon l'intensité.

b) La cétogenèse

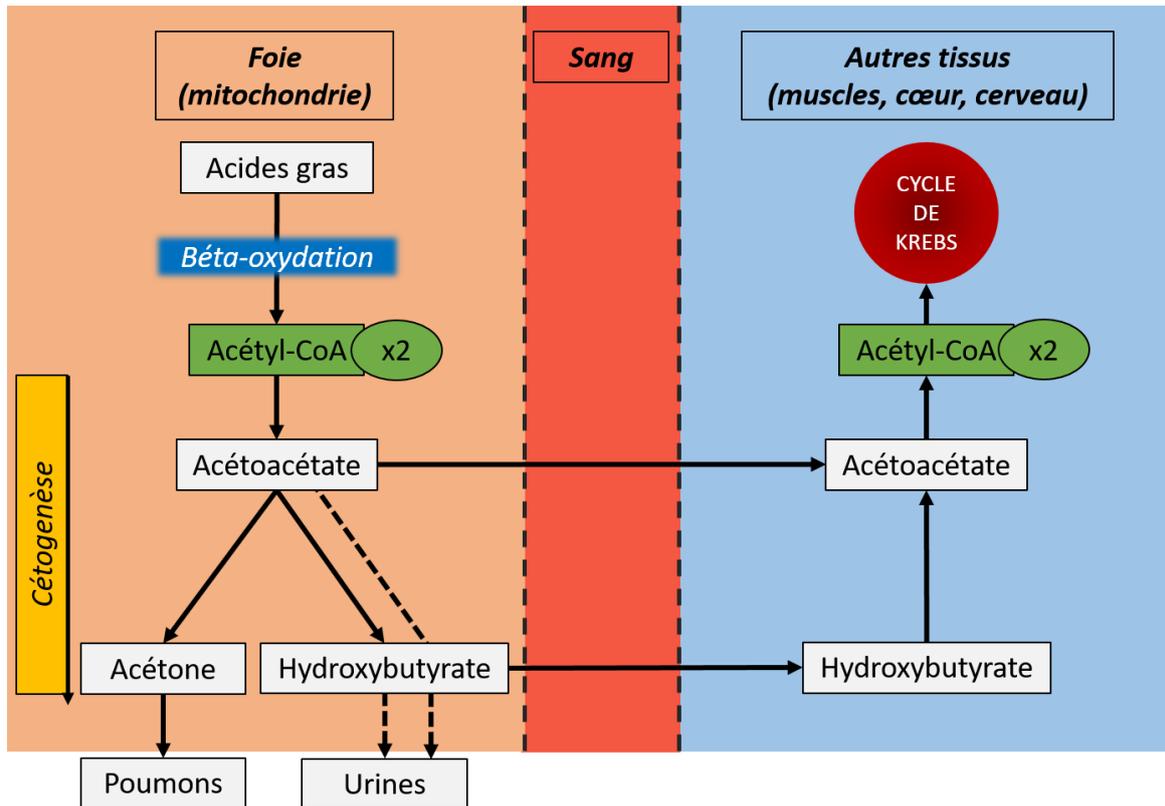
L'acétyl-CoA ainsi produit lors de la dégradation des lipides (lipolyse) et de la bêta-oxydation peut fournir le cycle de Krebs. Néanmoins, durant le jeûne et lorsque les réserves de glucose s'épuisent l'oxaloacétate présent dans le foie est utilisé pour la néoglucogenèse. Ainsi, le cycle de Krebs est ralenti dans le foie par la diminution de la concentration cellulaire d'un de ses substrats initiaux (l'oxaloacétate). L'acétyl-CoA produit dans les mitochondries des cellules hépatiques par la bêta-oxydation des acides gras est donc moins utilisé pour le cycle de Krebs, mais rejoint alors un autre mécanisme : la cétogenèse (Cox 2014) (**Figure 8.8**).

La cétogenèse est une voie métabolique qui, à partir d'acétyl-CoA, aboutit à la formation de corps cétoniques (acétoacétate, hydroxybutyrate et acétone) au niveau de la matrice mitochondriale des hépatocytes (cellules du foie) (Cox 2014, Puchalska 2017).

Contrairement à l'acétyl-CoA qui est exclusivement intra cellulaire, les corps cétoniques (acétoacétate et hydroxybutyrate) peuvent être transportés dans le sang vers les tissus périphériques ayant des besoins en énergie (muscles, cerveau, cœur) (Puchalska 2017). Ils y seront alors utilisés comme métabolite de substitution du glucose en étant convertis en acétyl-CoA, synthétisant ainsi de l'ATP, grâce au cycle de Krebs et à la phosphorylation oxydative. L'acétone, considérée comme un déchet métabolique sera quant à elle, éliminée par la ventilation pulmonaire.

D'autre part, les corps cétonique produits en excès peuvent être éliminés, à très faible dose, par la voie urinaire. Cependant une concentration trop importante de corps cétonique dans le sang et les urines est toxique pour l'organisme et peut être un signe ou une complication du diabète (Puchalska 2017).

Figure 8.8 : Cétogenèse des acides gras et devenir des corps cétoniques. (Les flèches en pointillées désignent une utilisation très faible en cas de non-pathologie).



4. Substrats protéiques du métabolisme aérobie

a) Catabolisme protéique

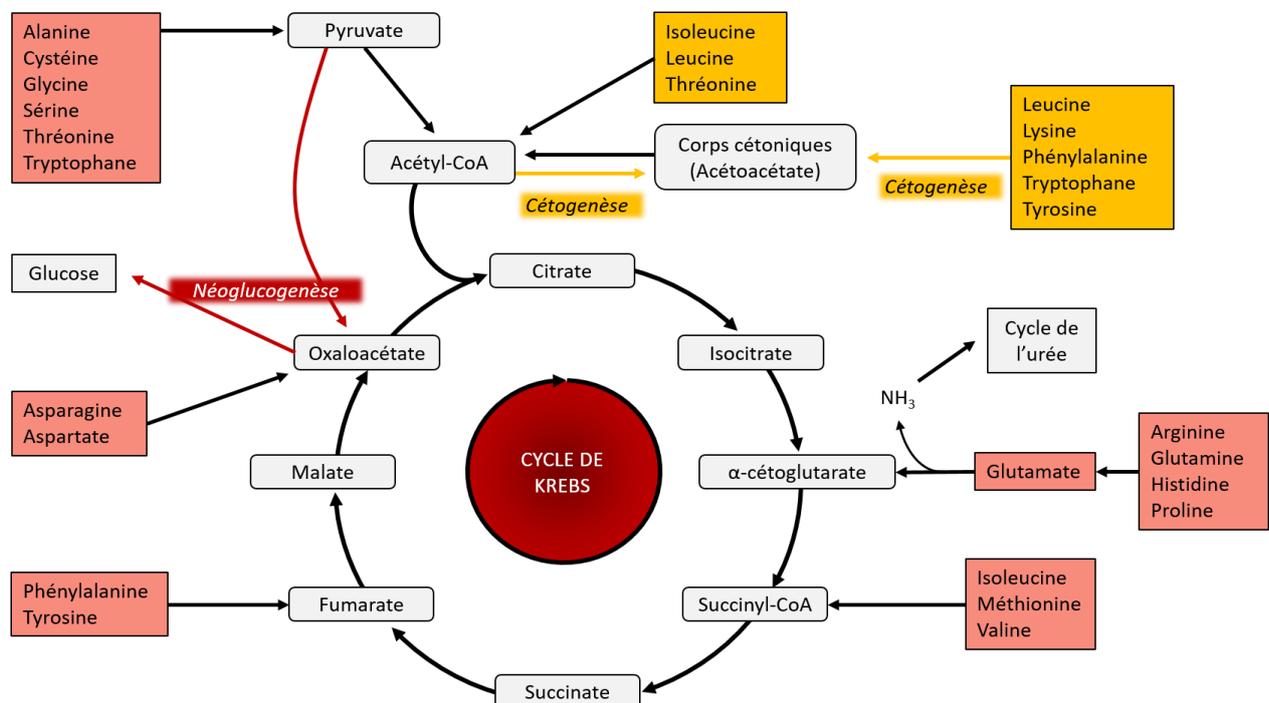
Bien que le métabolisme protéique ne contribue que très peu à la fourniture énergétique de l'organisme (<10%), on observe, lors d'exercices extrêmes ou de jeûne prolongé, un catabolisme des protéines, se déroulant principalement dans le foie. Plus précisément, ce sont les acides aminés, constituants élémentaires des protéines, qui servent d'intermédiaires métaboliques. Les réactions de dégradation de ces acides aminés (désamination ou transamination) peuvent alors aboutir à la formation de glucose, d'acétyl-CoA, de corps cétoniques et d'ammoniac (Wagenmakers 1998, Rennie 2000) (Figure 8.9).

En effet, certains acides aminés dit glucoformateurs, participent au métabolisme oxydatif par leur transformation en intermédiaires du cycle de Krebs ou en pyruvate. Ces derniers pourront alors être utilisés pour la formation de glucose dans le foie grâce à la néoglucogenèse (Wagenmakers 1998, Rennie 2000). D'autres acides aminés seront quant à eux utilisés pour la formation d'acétyl-CoA. Lors de l'exercice, l'acétyl-CoA formé sera alors utilisé par le cycle de Krebs pour fournir de l'énergie. Cependant, lors du jeûne, ces acides aminés dits cétoènes, aboutissent à la formation de corps cétonique dans le foie par l'intermédiaire de l'acétyl-CoA et de la cétoenèse vue précédemment.

Enfin, l'ammoniac (NH_3), issu de la dégradation des acides aminés, est pris en charge dans le foie par le cycle de l'urée (uréogénèse). L'urée ainsi formée est transportée jusqu'aux reins où elle est éliminée par l'urine (Krebs 1973).

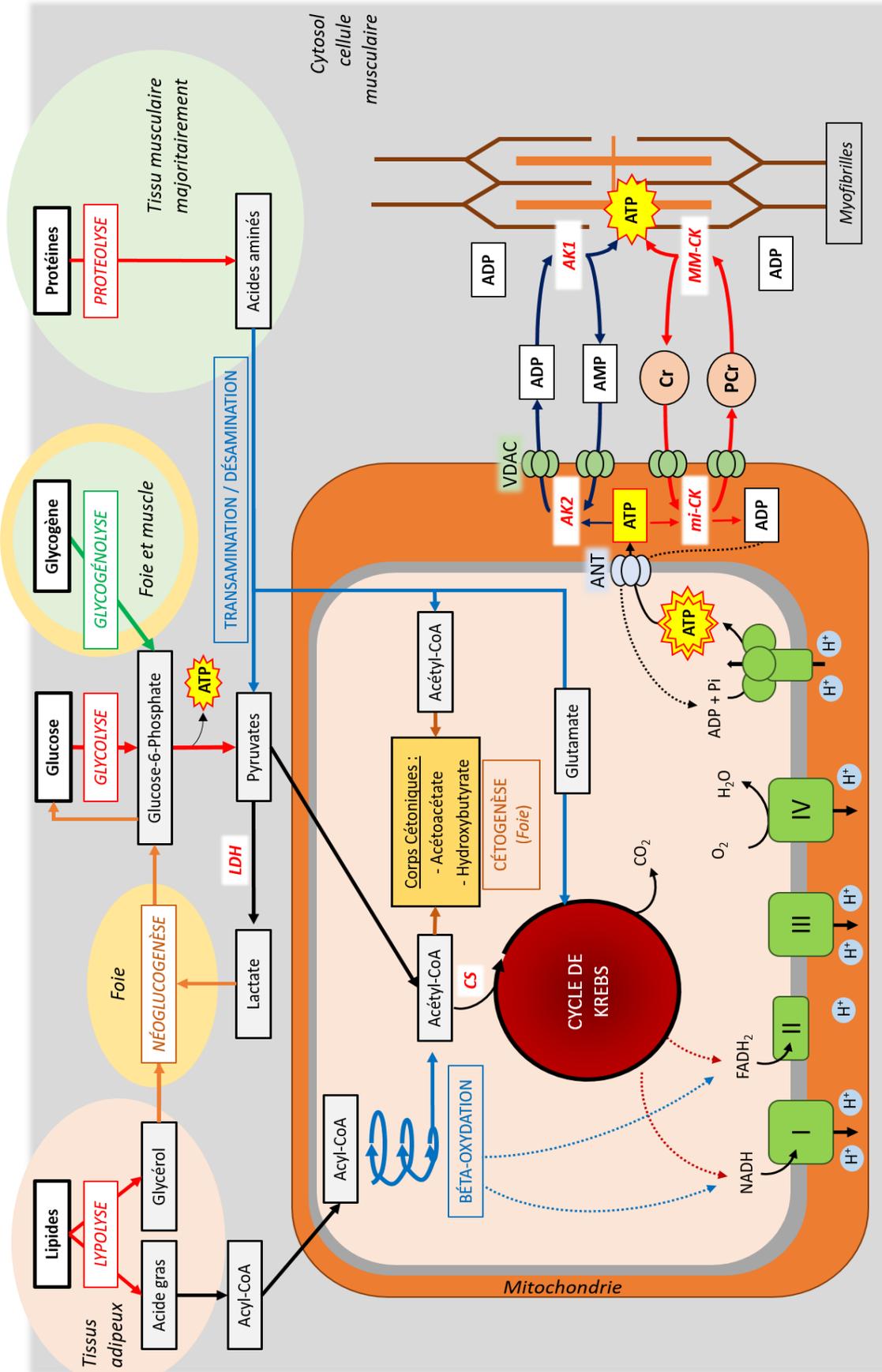
En fonction des demandes physiologiques (exercice, jeûne), le catabolisme des acides aminés conduit donc à différents produits finaux. N'existant pas de stockage des acides aminés dans l'organisme, il est alors important de garder un équilibre entre synthèse et catabolisme protéique.

Figure 8.9 : Catabolisme des acides aminés et leur utilisation dans le métabolisme énergétique. En jaune les acides aminés cétoéniques et en rose les acides aminés glycoéniques (Voet et Voet 1998).



D. Schéma synthèse

Figure 8 : Schéma regroupant l'action des différents métabolismes énergétiques au cours de la contraction musculaire.



E. Relations entre les différents métabolismes

Comme nous l'avons exprimé au début de ce chapitre, ces trois voies métaboliques (aérobie, glycolytique et anaérobie alactique) agissent simultanément. Mais leur niveau respectif de contribution à la formation d'ATP est différent et dépendra de l'intensité et de la durée de l'exercice, ainsi que la disponibilité des substrats ou encore de certaines pathologies. Par ailleurs, les liens existant entre ces différents métabolismes sont au cœur des recherches actuelles. En effet, si la courbe d'Howald en 1974 (**Figure 7**) montre un schéma assez simple de l'utilisation de ces métabolismes, nous savons aujourd'hui que des mécanismes plus complexes existent, permettant une communication et des interactions entre ces différentes voies métaboliques.

1. Navette PCr/CK

Bien que les réserves de PCr se reconstituent au repos en quelques minutes, elles peuvent aussi se reconstituer durant l'exercice si l'intensité diminue (Saks 2000, Rossiter 2002, Zoll 2002).

En effet, la créatine (Cr) résultante de l'utilisation de la PCr pour former de l'ATP, peut être éliminée dans les urines mais est plus généralement rephosphorylée en PCr au niveau de la mitochondrie, grâce à l'ATP synthétisée par le métabolisme aérobie et à l'enzyme de la créatine kinase mitochondriale (mi-CK) (Ventura-clapier 1998). Ce mécanisme est plus communément nommé : navette PCr/CK, il permet un transfert d'énergie du lieu de synthèse d'ATP (mitochondrie) vers le lieu d'utilisation de l'ATP (myofibrilles, pompes ioniques) tout en évitant la dissipation de l'énergie due au transport de l'ATP (Ventura-clapier 1998, Schlattner 2006, Saks 2007, Tepp 2016) (**Figure 9**).

Cette navette PCr/CK est aujourd'hui considérée comme la voie principale du transfert d'énergie entre la mitochondrie et les myofibrilles et est en grande partie contrôlée par le ratio ATP/ADP (Guzun 2009, Timohhina 2009, Guzun 2010, Aliev 2011, Tepp 2016). Ainsi, lorsque l'intensité d'exercice augmente, la consommation d'ATP s'intensifie, produisant de l'ADP cytosolique. L'ADP ainsi formé en grande quantité stimule alors la navette PCr/CK afin de resynthétiser la PCr.

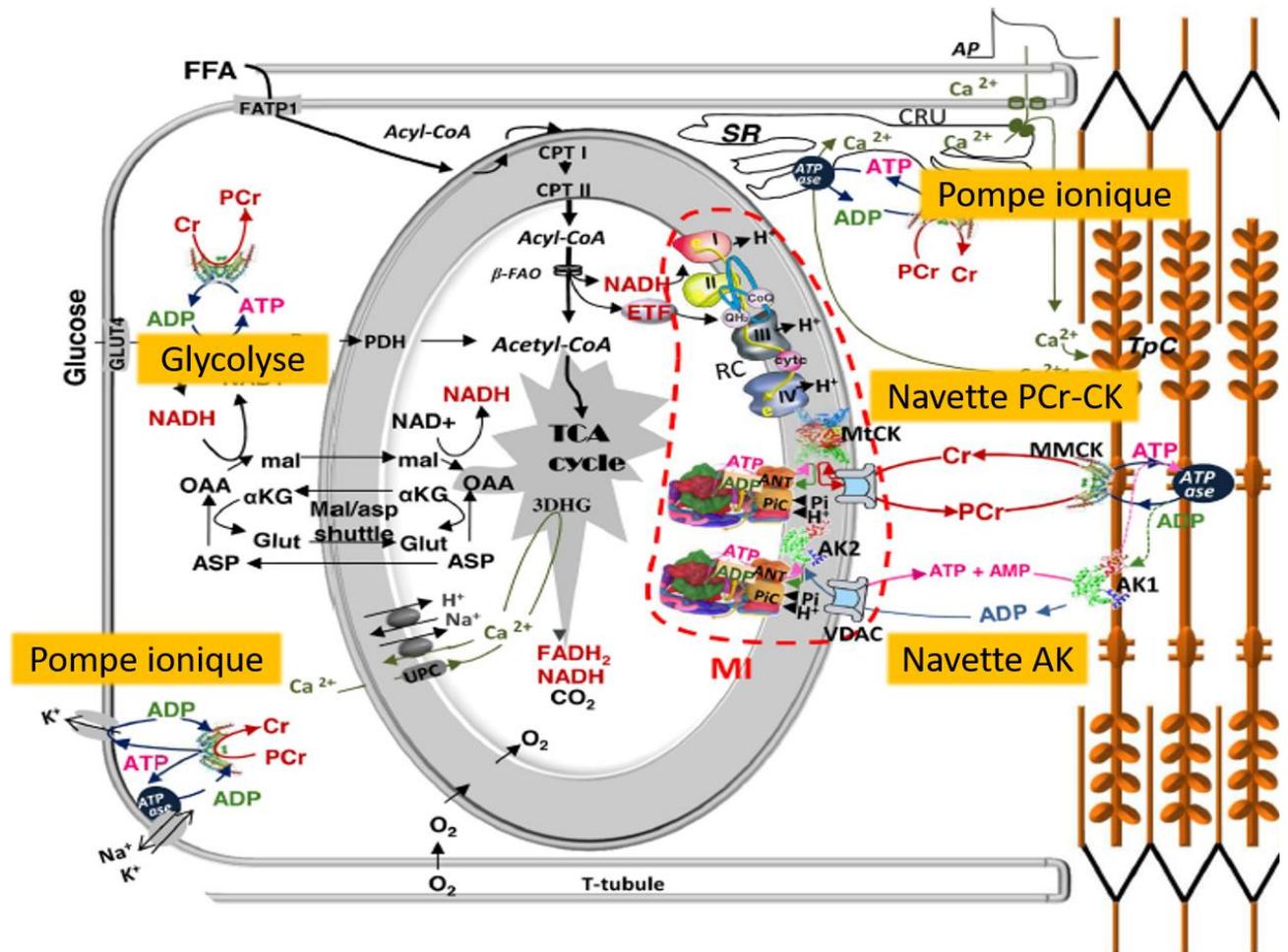
2. Navette AK

Dans les cellules musculaires, la navette PCr/CK est principalement utilisée pour le transfert d'énergie. Cependant, d'autres systèmes de transfert d'énergie existent. Parmi eux : la navette

adénylate kinase. Cette dernière fait intervenir l'enzyme adénylate kinase (AK) qui permet notamment la formation d'ATP et d'AMP (adénosine monophosphate) à partir de deux ADP (**Figure 9**).

Cette voie énergétique permet une adaptation supplémentaire lors du stress musculaire ou en cas de déficience de la navette PCr/CK (Dzeja 2011, Nemetlu 2012, Tepp 2016) et couvre, avec la navette PCr/Cr jusqu'à 90% du turnover d'ATP (Dzeja 1996, Dzeja 2004).

Figure 9 : Unités intracellulaires énergétiques : les différentes voies de transfert énergétique entre la mitochondrie et les lieux d'utilisation de l'énergie (d'après Tepp 2016)

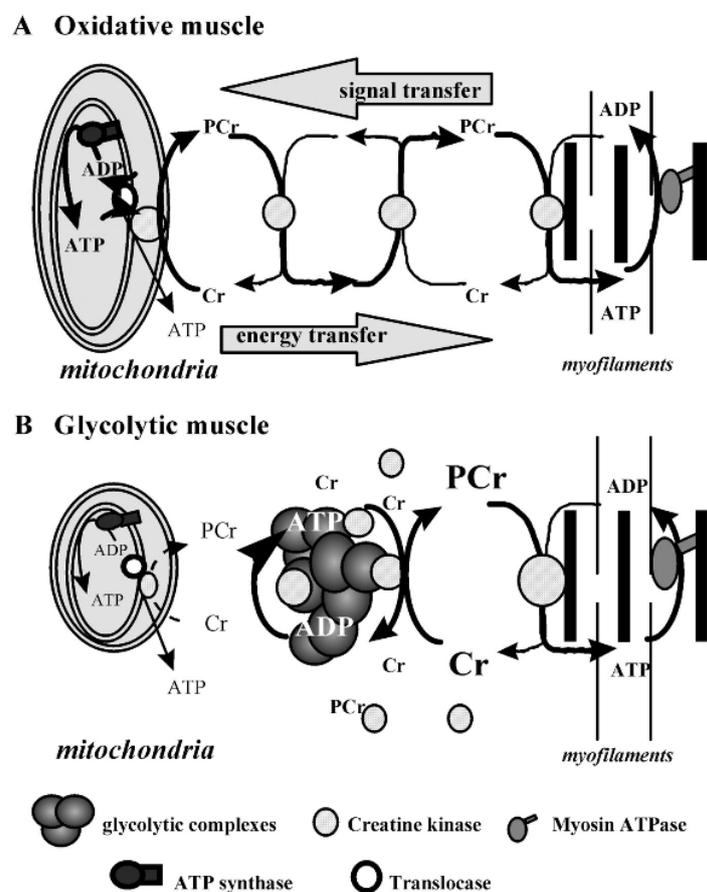


Il est important de noter que le fonctionnement de ces systèmes enzymatiques dépendant de la mitochondrie, est fortement impacté par la typologie musculaire. Ainsi, dans les fibres musculaires cardiaques et de types I et IIa, plus oxydatives et contenant plus de mitochondries, un couplage fonctionnel entre les kinases mitochondriales et le lieu d'utilisation de l'ATP permet un transfert d'énergie plus optimisé, permettant la resynthèse de PCr pendant l'exercice (d'intensité faible à modérée) (Ventura-clapier 1998, Gueguen 2006). Dans les fibres musculaires dites rapides, ces

systemes jouent principalement un rôle de tampon en épuisant les stocks de PCr lors d'activités intenses, permettant le maintien immédiat d'un niveau élevé de réserves énergétiques mais sur une courte durée (Ventura-clapier 1998, Gueguen 2006), l'intensité d'exercice devant alors être diminuée après épuisement des stocks énergétiques (**Figure 10**).

Figure 10 : Le système créatine kinase en fonction de la typologie musculaire (Ventura-Clapier 2002).

Les muscles oxydatifs utilisent les navettes PCr/CK pendant l'exercice (faible à modéré) afin de refournir un flux constant de PCr au niveau des myofibrilles, tandis que les muscles plus glycolytiques principalement stimulés lors d'exercices intenses utilisent leur stock de PCr jusqu'à épuisement. La baisse de l'intensité de l'exercice permet ensuite de reformer ces stocks lors de la récupération.



Ces voies/liens fonctionnels entre les mitochondries et les sites de consommation d'énergie (myosine ATPase, pompes ioniques), nommé ICEUs (unités énergétiques intracellulaires) (Saks 2007, Tepp 2016) ont notamment mis en exergue l'importance de la variation de l'intensité à l'entraînement (entraînement en intervalle) comme à l'exercice (marathon) (Billat 2001, Billat 2013). En effet, une baisse d'intensité au cours même d'un exercice permettra de stimuler/utiliser ces voies de transfert énergétique entraînant ainsi une régénération des stocks énergétiques (PCr notamment).

3. Régulation de la glycolyse et interaction avec l'oxydation lipidique

La glycolyse produit rapidement de l'énergie mais sur une durée relativement courte. Sa régulation est liée aux besoins énergétiques de la cellule mais aussi à d'autres interactions avec l'oxydation des acides gras. Le choix du substrat énergétique (glucose ou acide gras) dépendra de l'intensité de l'exercice et des interactions entre les différentes voies métaboliques.

Rappelons que trois enzymes clés régulent l'activité de la glycolyse : l'héxokinase (HK), la phosphofructokinase (PFK) et la pyruvate kinase (PK) (Saks 2009). Ainsi, la stimulation ou l'inhibition de l'activité de ces enzymes ont un impact sur la glycolyse. C'est notamment le cas du ratio ATP/ADP. Lorsque celui-ci diminue, la cellule ayant besoin d'énergie consomme de l'ATP et forme de l'ADP, activant alors la glycolyse en stimulant l'activité de PFK et PK. La formation d'ATP par une autre voie métabolique induit donc une diminution de la glycolyse en maintenant le taux ATP/ADP élevé.

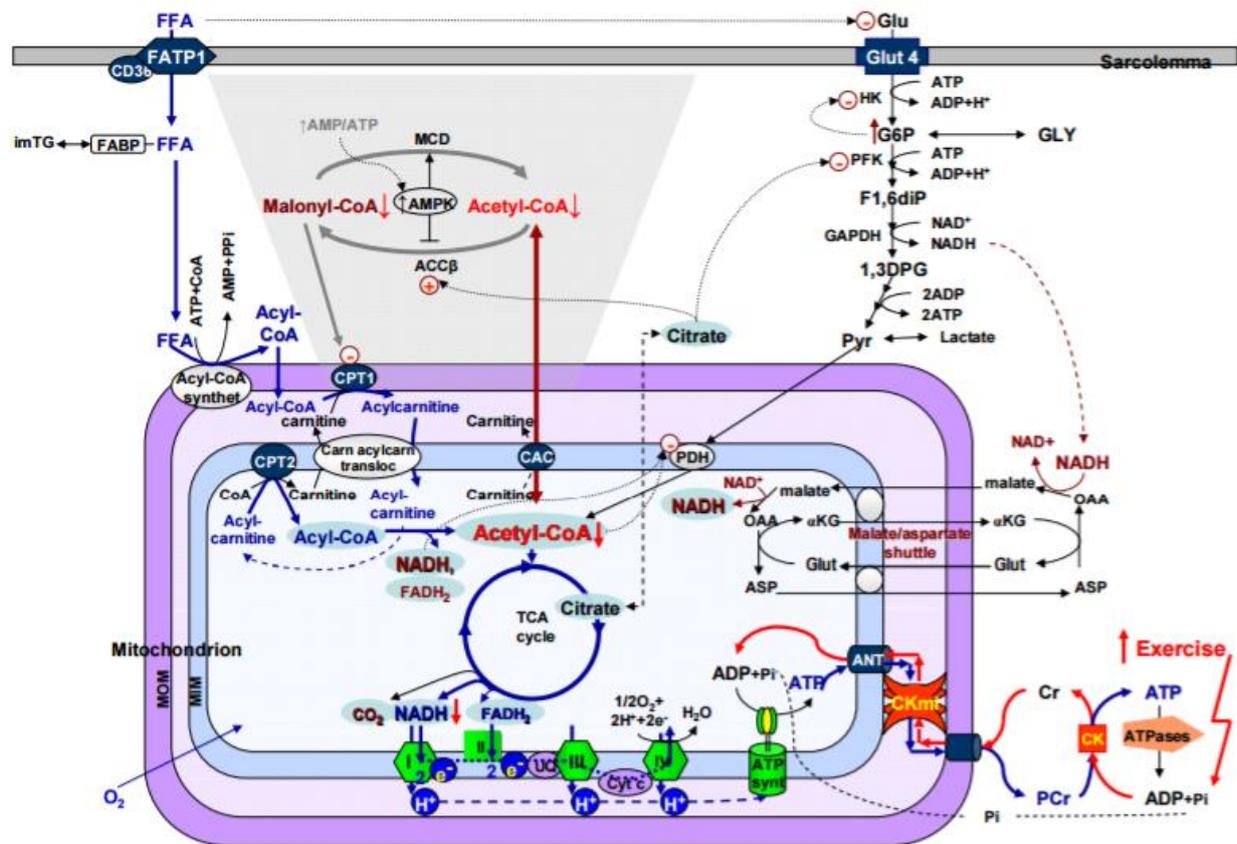
Lors du repos ou d'activités de faibles intensités, l'utilisation des acides gras, par leur oxydation, va alors inhiber la glycolyse en formant suffisamment d'ATP ainsi qu'en inhibant PFK par la production de citrate lors du cycle de Krebs (Saks 2006 et 2009) (**Figure 11**). Ces inhibitions vont ainsi augmenter le taux de glucose-6-phosphate (G6P), celui-ci étant normalement dégradé par PFK. G6P inhibera à son tour l'héxokinase, diminuant ainsi le catabolisme de la voie glycolytique (Saks 2009). Le transport du glucose à travers la membrane plasmique est lui-même inhibé en présence d'acide gras lors du repos ou d'exercice d'intensité faible (Saks 2009) (**Figure 11**).

En revanche, lorsque l'intensité de l'exercice augmente (>65-75% de la puissance maximale), l'oxydation des acides gras semble à son tour inhibée par l'utilisation plus importante de la glycolyse (Van loon 2001, Stephens et Galloway 2013). En effet, la diminution de l'oxydation des acides gras n'est pas due au manque de disponibilité de ceux-ci, mais serait due à une réduction de la disponibilité en carnitine libre (Van loon 2001, Stephens et Galloway 2013), la carnitine étant un co-facteur essentiel au transport des acides gras à longue chaîne à travers la membrane interne mitochondriale. L'augmentation de l'utilisation de la voie glycolytique en concordance avec l'augmentation de l'intensité de l'exercice mène alors à une diminution de la disponibilité en carnitine libre, réduisant l'oxydation des acide gras (Van loon 2001, Stephens et Galloway 2013).

Des études ont alors été menées afin d'évaluer si la supplémentation en carnitine permettrait d'épargner l'utilisation du glucose et d'améliorer les performances à l'exercice (notamment en endurance). Les résultats ont effectivement montré une amélioration des performances chez l'homme lors d'une épreuve de cycloergomètre de 30 minutes par une réduction de l'utilisation du métabolisme glycolytique au profit du métabolisme lipidique (Wall 2011). Une étude sur le rat avait auparavant

montré que la supplémentation en carnitine retardait la fatigue musculaire du soleus (Brass 1993). Cependant, la revue de Stephens et Galloway (2013) nuance ces résultats indiquant la nécessité d'études supplémentaires et mettant l'accent sur le rôle de la carnitine dans le métabolisme des glucides et moins sur celui des lipides pendant l'exercice (Stephens et Galloway 2013).

Figure 11 : Schéma des différentes voies métaboliques et de leurs interactions (de Saks 2006). Inhibition de la voie glycolytique par la voie d'oxydation des acides gras lors d'activités de faibles intensités.



SYNTHÈSE

sur la relation entre les différents métabolismes

Bien que nous connaissions assez précisément le fonctionnement des grandes voies du métabolisme énergétique, les relations et interactions entre chacune d'entre elles nécessitent encore de nombreuses études, notamment dans le domaine du transfert d'énergie entre ces différentes voies (Tepp 2016). Si la plupart des études et entraînements des premières décennies de recherche se focalisaient sur l'analyse distincte de ces voies métaboliques, il est aujourd'hui indispensable de les considérer et de les stimuler (par l'entraînement, la nutrition) dans leur ensemble afin de permettre à l'organisme de garder une flexibilité énergétique lors du vieillissement.

F. Effet du vieillissement sur les différents métabolismes énergétiques

Nous avons vu précédemment que la consommation maximale d'oxygène (VO_{2max}), ainsi que la masse musculaire et la force diminuaient avec l'âge, engendrant une baisse des performances physiques. Le fonctionnement des divers métabolismes énergétiques à l'exercice ayant été établi, nous allons nous focaliser maintenant sur l'évolution au cours du vieillissement des facteurs menant à cette baisse de régime énergétique d'un point de vue intégratif.

1. Métabolisme aérobie et dysfonction mitochondriale avec l'âge

De par son importance dans le bon fonctionnement du métabolisme énergétique, la mitochondrie a très largement été étudiée au cours des dernières décennies, que ce soit du point de vue quantitatif (densité mitochondriale) ou qualitatif (production de l'ATP). De plus, la suggestion d'une théorie sur l'impact de radicaux libres sur le vieillissement (Harman 1956, Figueiredo 2009, Peterson 2012) et le rôle prépondérant de la mitochondrie dans la production de ces radicaux libres (Balaban 2005, Navarro 2007, Peterson 2012) a souvent imputé la cause du vieillissement à la mitochondrie (Peterson 2012, Correia-Melo 2016). Mais aujourd'hui encore, du fait de l'hétérogénéité et d'une possible surestimation des résultats, le débat reste ouvert (Tepp 2016).

a) Capacité énergétique mitochondriale et vieillissement

De nombreuses études ont mis en exergue une altération des capacités énergétique musculaires avec l'âge (Conley 2000, Figueiredo 2009, Bratic et Trifunovic 2010, Peterson 2012, Gouspillou 2014, Tepp 2016). Plusieurs facteurs en sont la cause, tels que la diminution de la densité mitochondriale, l'altération des mécanismes enzymatiques impliqués dans les différents métabolismes énergétiques, ou encore la réduction de la production d'ATP lors de la phosphorylation oxydative.

La citrate synthase, première enzyme intervenant dans le cycle de Krebs est, rappelons-le, un indicateur du contenu mitochondrial d'un tissu (Figueiredo 2009, Larsen 2012). Ainsi, la mesure de l'activité enzymatique de cette enzyme est communément utilisée pour déterminer la densité mitochondriale d'un tissu (Figueiredo 2009, Larsen 2012). Bien que, encore une fois, nous trouvions certaines disparités dans les études, il est généralement observé une diminution de l'activité de la citrate synthase avec l'âge, que ce soit au niveau des muscles squelettiques (Coggan 1992, Podolin 1994, Rooyackers 1996, Pastoris 2000, Peterson 2012, Gouspillou 2014) ou au niveau du cœur (Picard

2012,)) ceci indiquant une diminution de la densité mitochondriale avec l'âge (Carmeli 2002, Conley 2000, Bailey 2010, Gousspillou 2014).

Néanmoins, certaines études sont en désaccord avec ces résultats, et ne montrent aucune diminution de l'activité enzymatique de la citrate synthase avec l'âge (Rasmussen 2003, Chabi 2008). Il est alors important de noter que l'activité physique augmente l'activité enzymatique de la citrate synthase à tout âge (Cartee 1987, Podolin 1994, Rossiter 2005, Ghosh 2011). C'est donc un facteur à prendre indéniablement en compte, notamment pour les études sur l'homme, où les disparités concernant l'activité physique journalière sont importantes et pourraient dès lors expliquer l'hétérogénéité des résultats.

Cette baisse apparente de la densité mitochondriale pourrait être une cause de l'altération des capacités oxydatives musculaires, mais ne l'expliquerait pas à elle-seule (Layec 2013).

Une réduction de la capacité énergétique musculaire pourrait aussi s'expliquer par une diminution de la vitesse de consommation d'oxygène et/ou du rendement de la phosphorylation oxydative, induisant alors une baisse de production d'ATP au sein de la mitochondrie.

Cependant, des contradictions persistent concernant l'évolution de la capacité oxydative musculaire avec l'âge. Certaines études montrent en effet une diminution de celle-ci au cours du vieillissement (Rooyackers 1996, Conley 2000), notamment par une diminution de la vitesse maximale de consommation d'oxygène (Trounce 1989, Tonkonogi 2003, Figueiredo 2008, Huang et Hood 2009), tandis que d'autres études n'observent aucune différence (Rasmussen 2003, Capel 2004, Lanza 2005, Chabi 2008). Allant dans ce sens, une méta-analyse récente (Fitzgerald 2016) a montré, à l'aide de 22 études sélectionnées parmi 3 561, que nous ne pouvons actuellement aucunement conclure en une baisse de la capacité oxydative musculaire avec l'âge, ceci étant dû à l'hétérogénéité des résultats et aux nombreux facteurs influençant l'analyse tels que le sexe, l'activité physique, les méthodes de mesure ou les groupes musculaires étudiés.

Ainsi, la baisse de production d'ATP observée avec l'âge ne semblerait pas être limitée par la fourniture/disponibilité en oxygène mais plus probablement par une diminution de la densité mitochondriale, du rendement énergétique de la phosphorylation oxydative (Marcinek 2005, Layec 2013) ou, comme montré plus récemment, par une altération du transfert de l'énergie (Tepp 2016). Diverses études ont observé, au cours du vieillissement, une diminution du rendement énergétique de la phosphorylation oxydative ainsi qu'une diminution de la vitesse de production d'ATP au niveau mitochondrial (Conley 2000, Drew 2003, Marcinek 2005, Amara 2007). Les causes de ces déclin

peuvent être multiples, mais parmi les plus plébiscitées nous trouvons notamment la théorie des dommages oxydatifs causés par les radicaux libres.

b) Radicaux libres, antioxydants et vieillissement

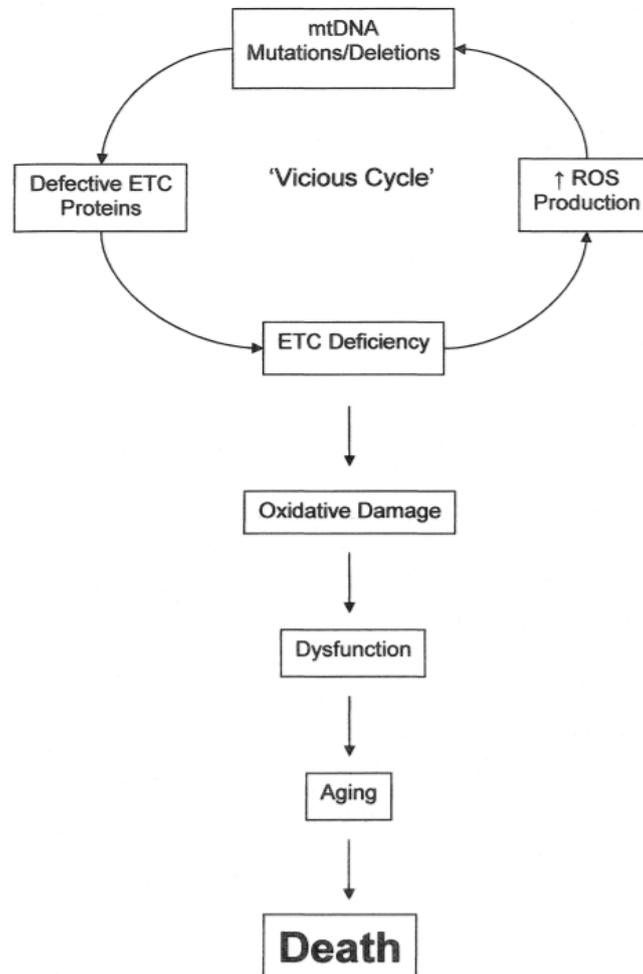
Les radicaux libres, ou ROS (reactive oxygen species), sont des molécules (ou atomes) possédant un ou plusieurs électrons non-appariés (ou célibataires). L'instabilité chimique de ces molécules les rend très réactives et celles-ci réagissent alors avec les autres molécules les entourant, formant de nouveaux radicaux libres. La propagation de ces réactions en chaîne est à l'origine d'altération cellulaires et de mutations.

Dans la mitochondrie, lors de la phosphorylation oxydative, l'oxygène (O_2) est un bon accepteur d'électrons, et peut former, comme nous l'avons vu, de l'eau (H_2O), en présence de proton (H^+). Néanmoins, lorsque les électrons transportés au cours de la chaîne respiratoire sont perdus, ils se combinent avec l'oxygène, principalement au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire (Turrens 2003, Murphy 2009, Brand 2010) et forment l'anion superoxyde (O_2^-). La cascade de réactions qui en découle conduit alors à la formation de ROS.

Ces ROS induisent des dommages oxydatifs tels que des mutations génétiques de l'ADN mitochondrial (Hamilton 2001, Fulle 2004, Short 2005), des altérations des structures protéiques et des lipides membranaires, allant jusqu'à l'apoptose (mort cellulaire) (Kannan 2000, Fulle 2004, Balaban 2005, loeb 2005), que ce soit dans les cellules musculaires squelettiques, cardiaques ou dans les divers tissus hépatiques, endothéliaux et cérébraux (Hamilton 2001, Fulle 2004, Short 2005, Mansouri 2006, Zhang 2007, Wang 2010). L'ensemble de ces effets néfastes est appelé : stress oxydant et serait *in fine* un des responsables du vieillissement cellulaire (Gianni 2004, Balaban 2005, Mansouri 2006).

En effet, il a été montré que la formation de ROS et le stress oxydant qui en découle augmentait avec l'âge (Martins Chaves 2000, Hamilton 2001, Fulle 2004, Short 2005, Bailey 2010), induisant des altérations au niveau de la phosphorylation oxydative, et réduisant la capacité maximale de production d'ATP (Drew 2003, Short 2005, Mansouri 2006, Brand 2010) en impactant directement les protéines des complexes de la chaîne respiratoire (Gianni 2004, Zhang 2007, Brand 2010) (**Figure 12**).

Figure 12 : Le cercle délétère des dommages oxydatifs dans le vieillissement mitochondrial (ETC = chaîne de transport d'électron) (Gianni 2004) :



Face à la production permanente de ROS, l'organisme possède différents mécanismes enzymatiques (catalase, superoxyde dismutase) (Gianni 2004, Wassmann 2004) non-enzymatique (glutathion réduit, acide urique) (Hellsten 2001, Johnson 2009, Gianni 2004) ou d'origine alimentaire (vitamines E, C) (Meydani 1993, Zoppi 2006, Johnson 2009) pour se protéger des ROS et préserver le bon fonctionnement cellulaire: ce sont les antioxydants.

Les antioxydants possèdent une grande affinité pour les ROS et réagissent avec ceux-ci afin de les neutraliser ou de ralentir leur processus d'oxydation. Certaines études montrent une augmentation des antioxydants avec l'âge (Paolisso 1998, Pansarasa 1999, Inal 2001), reflétant une adaptation du système antioxydant face à l'augmentation des ROS (Bailey 2010). Néanmoins, d'autres études révèlent une diminution progressive des antioxydants lors du vieillissement (Andersen 1997, Tian

1998, Lustgarten 2011), réduisant alors la capacité antioxydante des cellules, notamment pour les sédentaires (Gianni 2004).

Cette diminution de la capacité antioxydative de l'organisme associée à l'augmentation du stress oxydants avec l'âge (vu précédemment) induirait un déséquilibre oxydants/antioxydants en faveur des oxydants (Bokov et al 2004). Ce déséquilibre mènerait à des dommages cellulaires irréversibles et à une altération du métabolisme énergétique, notamment au niveau des mitochondries, expliquant en partie les dysfonctionnements de la filière aérobie.

c) La dynamique de fusion-fission mitochondriales

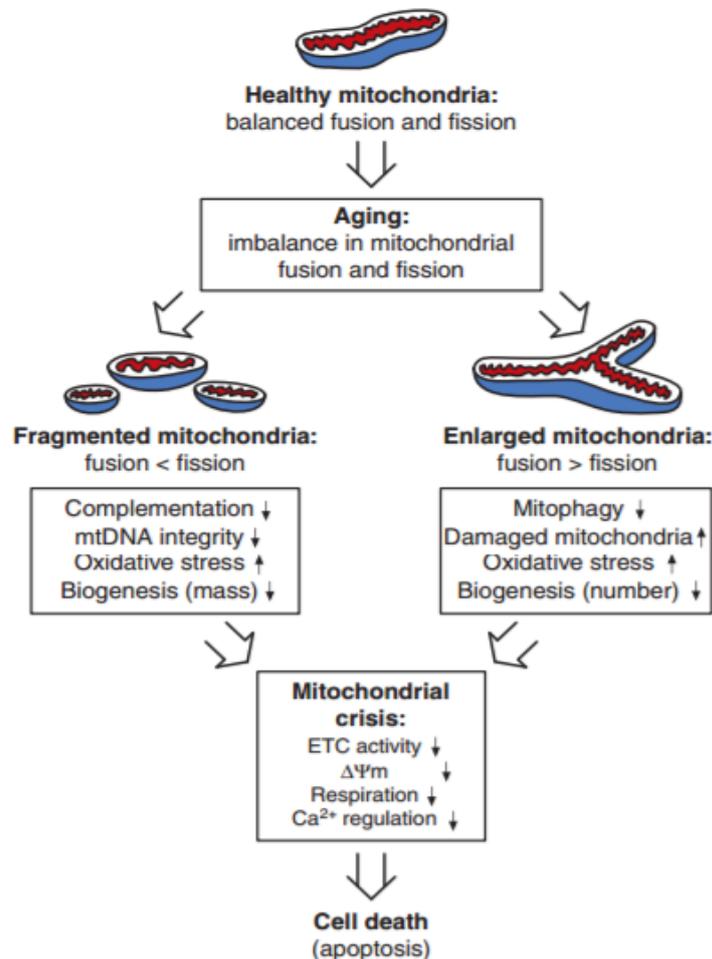
Comme nous venons de le montrer, l'impact des ROS dans le processus du vieillissement cellulaire est important, et induit notamment des mutations de l'ADN mitochondrial (Hamilton 2001, Short 2005, Westermann 2010, Kowald 2011). La mitochondrie est à la fois la source principale de production de ROS mais aussi leur cible primaire, entraînant ainsi des niveaux élevés de mutations de l'ADN mitochondriale (Fulle 2004, Gianni 2004, Zhang 2007, Seo 2010, Kowald 2011).

Pour faire face aux dommages mitochondriaux causés par les ROS, des mécanismes de fusion et de fission mitochondriales coexistent (Seo 2010, Westermann 2010, Youle 2012). La fusion mitochondriale permet aux mitochondries fonctionnelles de compléter les mitochondries dysfonctionnelles par le partage des composants entre les organites, engendrant une réparation des fonctions mitochondriales au détriment du nombre de mitochondries (Seo 2010, Westermann 2010, Youle 2012). Inversement, la fission ou division mitochondriale, permet la genèse de nouvelles mitochondries ainsi que le contrôle de la qualité des fonctions mitochondriales. En effet, la fission mitochondriale engendre généralement deux mitochondries de qualité différente, une première sans dommage ou mutation et la deuxième, souvent endommagée, destinée à la mitophagie. La mitophagie est le mécanisme d'élimination des mitochondries dysfonctionnelles de la cellule permettant d'empêcher la prolifération des mutations de l'ADN mitochondrial. Ces deux mécanismes fonctionnent de concert et représentent la dynamique mitochondriale (Seo 2010, Westermann 2010, Youle 2012).

Avec l'âge, l'impact des ROS devenant trop important, dérégule ainsi ces mécanismes de fusion et fission créant un déséquilibre (Bossy-Wetzel 2003, Seo 2010, Kowald 2011). Un déficit du taux de fusion et/ou de fission mitochondriale ne compensant plus les mutations mitochondriales, serait une possible voie d'explication de la baisse de densité et de fonction mitochondriale observée au cours du vieillissement (Bossy-Wetzel 2003, Seo 2010, Westermann 2010, Kowald 2011) (**Figure 13**).

Figure 13 : Modèle d'influence de la dynamique mitochondriale lors du vieillissement (Seo 2010).

Le déséquilibre entre fusion et fission mitochondrial survenant avec l'âge mène à la baisse des fonctions mitochondriale et à la mort cellulaire.



SYNTHESE

sur la dysfonction mitochondriale avec l'âge

Le rôle de la mitochondrie comme responsable du processus de vieillissement semble donc être, encore aujourd'hui, au cœur des recherches et est encore fortement débattu. La variabilité des résultats étant principalement due aux différences existantes entre les groupes musculaires et à l'effet de l'activité physique devant être pris en compte. Si la dysfonction mitochondriale menant à une diminution de la production mitochondriale d'ATP est unanimement observée avec l'âge, les causes n'en sont pas encore définies. La consommation d'oxygène au sein de la mitochondrie ne semble pas être le facteur limitant le plus probant, et les études s'orienteraient plus vers une diminution de la qualité de production d'ATP lors de la phosphorylation oxydative avec l'âge et une altération du transfert de l'énergie des sites de formation (mitochondrie) vers les sites d'utilisation. Les déséquilibres oxydants/antioxydants et fusion/fission mitochondriales en seraient de grands responsables.

2. Effet de l'âge sur le métabolisme glycolytique

Le métabolisme aérobie n'est pas le seul à être impacté par le vieillissement, les mécanismes glycolytiques ne sont, eux aussi, pas épargnés. En effet, avec l'âge, un paradoxe entre la diminution des réserves de glucose (glycogène) disponibles et l'utilisation plus importante du métabolisme glycolytique apparaît, générant une diminution du potentiel énergétique de ce métabolisme.

a) *Lactatémie et enzymes glycolytiques avec l'âge*

Avec l'âge, dans les muscles squelettiques et cardiaque de l'homme ou du rongeur, il est majoritairement observé une diminution de la glycolyse (Ohlendieck 2011, Nemutlu 2015) et de plusieurs enzymes impliquées dans la voie glycolytique (glycogène phosphorylase, glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase, pyruvate kinase...) (Kanski 2005, Korhonen 2005, Gelfi 2006, Capitano 2009), bien que certaines études puissent observer des variations différentes avec l'âge (Doran 2008, Wei 2009, Houtkooper 2011).

Parmi les plus représentatives de l'utilisation de la glycolyse anaérobie, la lactate déshydrogénase (LDH) apparaît elle-aussi diminuée au cours du vieillissement (Singh 1968, Holloszy 1991, Pastoris 2000, Kaczor 2006, Reaburn 2009, Washington 2014). C'est le cas principalement de son isoforme musculaires (LDH-M) formant le lactate à partir du pyruvate (Izquierdo 2001), tandis que l'isoforme présente dans le cœur (LDH-H) catalysant la réaction inverse ne montre pas de changement avec l'âge (Larsson 1978, Reaburn 2009), induisant une transition de l'isoforme LDH-M (glycolytique) vers l'isoforme LDH-H (oxydatif) (Marsh 1999, Reaburn 2009). La conversion de typologie des fibres musculaires avec l'âge (fibres glycolytiques vers fibres plus oxydatives) pourrait en partie expliquer ces observations : la LDH-M étant principalement présente dans les fibres de types glycolytiques et la LDH-H, permettant une oxydation du lactate en pyruvate, étant majoritaire dans les fibres oxydatives (Reaburn 2009).

Le déclin de l'activité des enzymes intervenant dans la glycolyse avec l'âge, impacte négativement la resynthèse rapide des substrats de la glycolyse anaérobie que sont notamment les coenzymes oxydés NAD^+ , limitant les performances anaérobies et la capacité à tenir une intensité élevée d'exercice (Singh 1968, Kaczor 2006, Gelfi 2006).

La lactatémie maximale pouvant être atteinte lors d'exercice intense, diminuant elle aussi avec l'âge, corrobore ces observations (Marsh 1999, Izquierdo 2001, Hepple 2003, Korhonen 2005), le lactate étant un produit de la glycolyse anaérobie et de la réaction faisant intervenir la LDH-M. A noter que le taux de lactate sanguin est plus élevé chez la population âgée pour une même intensité absolue

d'exercice ; l'accumulation de lactate augmente donc plus rapidement avec l'augmentation de la charge de travail (Fitts 1984, Izquierdo 2001), mais la lactatémie maximale pouvant être atteinte diminue avec l'âge (Hepple 2003, Masuda 2009). En d'autres termes, lors du vieillissement, l'utilisation de la glycolyse sera plus importante pour une même intensité absolue d'exercice et l'atteinte de la lactatémie maximale se fera donc plus rapidement, sans pour autant améliorer la capacité maximale du métabolisme glycolytique.

L'utilisation de la glycolyse chez les personnes âgées se retrouve donc rapidement limitée par un déficit en enzymes glycolytiques et en resynthèse rapide des substrats de la glycolyse (NAD⁺), ainsi que par l'atteinte plus rapide d'une lactatémie élevée pour un exercice intense. Mais d'autres paramètres sont aujourd'hui de plus en plus étudiés : les transporteurs du lactate, monocarboxylate transporteur (MCT).

b) Transporteur de lactate MCT et vieillissement

Comparés aux nombreuses études sur la lactatémie, les transporteurs de lactate MCT ont été tardivement découverts (Mowbray 1975) et étudiés (Garcia, 1994). On dénombre aujourd'hui 14 isoformes de MCTs différents dont les plus étudiés sont MCT1 et MCT4.

Rappelons que MCT1 se situe principalement dans les fibres musculaires de type oxydatives (type I) ainsi que dans le cœur, et facilite le captage du lactate présent dans le milieu extracellulaire afin que celui-ci soit reconverti en pyruvate et utilisé lors du métabolisme aérobie (Halestrap 1999, Bonen 2001). MCT4, quant à lui, est prédominant dans les fibres musculaires glycolytiques (type II) et participe à l'extraction du lactate vers le milieu extracellulaire (Halestrap 1999, Bonen 2001).

Si l'effet de l'activité physique sur l'expression de MCT1 et MCT4 a été au cœur de nombreuses études (cf. chapitre suivant), ce n'est pas le cas pour l'effet du vieillissement. En effet, si Richards (2005) n'a détecté aucune influence de l'âge sur ces transporteurs chez l'homme, son étude n'a concerné que des sujets de moins de 58 ans (Richards 2005). Néanmoins, une étude de Masuda 2009 a récemment montré une diminution de MCT1 chez le rat avec l'âge (3 mois vs 27 mois), dans le muscle oxydatif (Soleus) et de MCT4 dans le muscle glycolytique (EDL), précisant que ces diminutions n'étaient pas dues au manque d'activité physique mais bien au vieillissement. Ces observations ont mené à la conclusion qu'une accumulation moins importante de lactate était observée chez les rats âgés due à une diminution de l'expression des transporteurs de lactate MCTs (Masuda 2009). Résultats en accord avec l'article de Juel 1991 observant une diminution des capacités de transport du lactate avec l'âge chez le rat de 22 mois et la souris de 18 mois (vérifié par deux méthodes : vésicules géantes sarcolemmiques et technique de microélectrode appliquée à des fibres individuelles) (Juel 1991).

La lactatémie mesurée ne dépend donc pas seulement de la glycolyse mais aussi de l'expression des protéines de transport MCTs (Bonen 2001), dont l'évolution avec l'âge est encore trop peu étudiée.

c) Effet du vieillissement sur le stockage et la capture du glucose

Le métabolisme glycolytique est aussi impacté au niveau des réserves glycogéniques s'amenuisant et au niveau de sa consommation plus rapide chez les personnes âgées (Fitts 1984, Meredith 1989, Cartee 1994, Sial 1996). Ces phénomènes pourraient être en partie expliqués par la diminution de la fourniture en énergie du métabolisme aérobie (expliqué précédemment) induisant un abaissement des capacités en endurance et donc une surutilisation du métabolisme glycolytique malgré les intensités faibles d'exercice (Izquierdo 2001).

Mais, une sensibilité réduite à l'insuline, hormone sécrétée par le pancréas et contrôlant l'homéostasie glucidique, pourrait être un facteur supplémentaire de la dysfonction du métabolisme glycolytique au cours du vieillissement (Petersen 2003, Nair 2005). En effet, il est maintenant connu que l'insulino-résistance augmente avec l'âge chez l'Homme (Ryan 2000, Petersen 2003, Nair 2005, Flack 2011), pouvant causer diverses pathologies telles que le diabète de type 2. Cette augmentation de l'insulino-résistance serait due à un contenu plus important en acide gras libres dans les cellules musculaires et hépatiques, phénomène lui-même expliqué par les dysfonctions mitochondriales et la baisse de la phosphorylation oxydative (Ryan 2000, Petersen 2003, Flack 2011).

Sans toutefois considérer les cas pathologiques, cette désensibilisation à l'insuline intervenant avec l'avancée de l'âge, impacterait grandement le métabolisme glucidique. En effet, l'insulino-résistance induit une diminution de la glycogénogénèse ainsi qu'une diminution de l'inhibition de la néoglucogénèse observée dans le foie de rats âgés (Satrustegu 1986, Podolin 1994), induisant entre autres, une diminution des réserves de glycogène (principalement intramusculaire) et une hyperglycémie sanguine. L'insulino-résistance, la quantité importante de glucose sanguin sous forme non stockée et le déclin du métabolisme aérobie (vu précédemment) pourrait alors expliquer l'utilisation plus rapide du glucose comme substrat énergétique et la déplétion glycogénique musculaire plus importante à l'exercice chez l'homme âgé (Fitts 1984, Meredith 1989, Cartee 1994, Sial 1996).

SYNTHESE

sur l'effet du vieillissement sur le métabolisme glycolytique

Avec l'âge, une utilisation et consommation plus rapide du métabolisme glycolytique apparaît lors de l'exercice, induisant une atteinte plus rapide de la lactatémie maximale, elle-même réduite avec l'âge. Paradoxalement, les réserves de glycogène (principal substrat du métabolisme anaérobie) ainsi que la capacité maximale de la glycolyse devenant plus faibles, une baisse du potentiel énergétique du métabolisme glycolytique est donc observée au cours du vieillissement. Ces altérations s'additionnant à la conversion des fibres de types II (rapides, glycolytiques) en fibres de type I (lentes, oxydatives) rendent le métabolisme anaérobie de moins en moins performant et diminuent les capacités physiques pour les activités intenses chez les personnes âgées (Reaburn 2009).

3. Effet de l'âge sur le métabolisme anaérobie alactique

Pour faire face à une demande énergétique importante, l'organisme et plus précisément la cellule musculaire dispose de systèmes de transfert énergétique que sont la navette Phosphocréatine (PCr)/Créatine Kinase (CK) et la navette Adénylate Kinase (AK). Celles-ci vont en effet permettre une rephosphorylation rapide de l'ADP grâce à un transfert de phosphate de la mitochondrie vers le site d'utilisation de l'ATP (la myofibrille). Cependant, ce métabolisme énergétique n'est lui aussi pas épargné par le vieillissement.

a) *Créatine kinase, adénylate kinase et vieillissement*

Dans les fibres musculaires rapides (glycolytiques), les différents isoformes de CK et AK maintiennent de fortes réserves énergétiques, rapidement mobilisables, tandis que dans les fibres lentes I et mixte IIa ainsi que dans le cœur, ces systèmes assureraient essentiellement le transfert énergétique et la communication entre lieux de production (mitochondries) et lieux d'utilisation (myofibrilles) de l'énergie pendant la contraction (Ventura-clapier 1998, Gueguen 2006).

Aucun consensus n'est encore réellement établi concernant l'évolution des enzymes AK et CK avec l'âge. Les variabilités observées seraient en partie dues aux méthodes de mesures et aux tissus analysés (Kaczor 2006, Tepp 2016).

Bien que certaines études dénotent une augmentation de l'activité de CK avec l'âge (Lee 1999, Doran 2008), il semblerait qu'une diminution de l'expression génique et de l'activité enzymatique des isoformes mitochondriaux (mi-CK) et cytosoliques (MM-CK) de la créatine kinase soit majoritairement

observée au cours du vieillissement, que ce soit au niveau des muscles squelettiques et cardiaque chez l'homme et le rongeur (Schuyler 1990, Bodyak 2002, Kaczor 2006, O'Connel 2007, Nuss 2009, Nemutlu 2015).

Cette altération de l'activité de la CK, pouvant être causée par le stress oxydant (Kanski 2005), serait un des facteurs majeurs de la perte de fonction musculaire avec l'âge (Pastoris 2000, Nuss 2009) et de la baisse des capacités anaérobies (Kaczor 2006).

Concernant l'activité de l'AK, les résultats moins nombreux et plus disparates ne permettent pas de déterminer son sens d'évolution avec l'âge. En effet, si certaines études observent une diminution du taux d'activité et du flux de phospho-transfert par l'AK avec l'âge (Kaczor 2006, Nemutlu 2015, Paasuke 2016), d'autres montrent en revanche une augmentation de son activité chez les rats âgés (O'Connel 2007, Doran 2008).

Une étude de Dzeja et al. 2011 pourrait nous offrir une voie d'explication à l'augmentation d'activité de l'AK avec l'âge (Dzeja 2011). Cette étude montre, en effet, que dans le cœur de souris déficientes pour l'enzyme CK, la navette AK et d'autres systèmes de transfert d'énergie sont capables de compenser en partie la déficience de la navette PCr/CK, bien que ceux-ci soient moins efficaces (Yaniv 2013, Tepp 2016). La diminution de l'activité des différents isoformes de CK avec l'âge pourrait donc engendrer une augmentation de l'activité des isoformes de AK, comme l'ont aussi observé O'Connel et al. 2007.

b) Phosphocréatine : disponibilité et vieillissement

Nous venons de voir que le flux de transfert d'énergie semble donc diminuer avec l'âge. Celui-ci ayant pour objectif la rephosphorylation de l'ADP en ATP ou de la créatine (Cr) en phosphocréatine (PCr), il est donc utile de s'intéresser à la disponibilité en PCr présente dans les cellules musculaires.

Avec l'âge, bien qu'il existe encore certaines controverses, cette disponibilité en PCr et le taux d'hydrolyse de la PCr semblent diminués chez les sujets âgés au niveau du cœur et du muscle squelettique (Bak 1998, Lanza 2005, Reaburn 2009, Hollingsworth 2012). Les causes de ces réductions ne sont pas encore bien établies, mais une baisse d'activité enzymatique de CK engendrant une diminution de la resynthèse en PCr à l'exercice pourrait être un facteur déterminant (Tepp 2016).

Un autre paramètre à prendre en compte est celui de la transition de la typologie musculaire. En effet, les fibres musculaires rapides ayant une consommation plus importante de PCr à l'exercice, possèdent alors des stocks de PCr plus importants que les fibres lentes (Tesch 1985, Greenhaff 1994). Or, avec l'âge, une transition phénotypique des fibres rapides vers les fibres lentes s'opère (Larsson 1978,

Coggan 1992, Butler-Browne et Bigard 2006, Brooks 2016). Ces phénomènes, couplés à la réduction de l'activité de la CK, pourraient alors expliquer la diminution observée avec l'âge du contenu en PCr musculaire ainsi que la réduction de la vitesse de resynthèse de la PCr après une contraction musculaire. La disponibilité en PCr s'en retrouve donc réduite au cours du vieillissement, entraînant une baisse du potentiel énergétique du métabolisme anaérobie alactique et par conséquent une diminution de la capacité à réaliser des exercices ou activités du quotidien difficiles.

La cinétique de resynthèse de la PCr après un exercice dépend de l'activité de la CK, et plus précisément de l'isoforme mitochondrial (mi-CK) présent principalement dans les fibres de type oxydatives. C'est pourquoi cette cinétique de resynthèse de la PCr est régulièrement utilisée comme mesure indirecte de la fonction mitochondriale et de sa capacité oxydative (Paganini 1997, Conley 2000, Layec 2013). D'autre part, l'ADP produit dans la mitochondrie, par la réaction faisant intervenir mi-CK, joue un rôle important dans le contrôle de la phosphorylation oxydative dans les fibres de types I et IIa (Kay 2000, Tepp 2016). Gueguen et al. 2006 ont d'ailleurs observé que la phosphorylation oxydative de ces fibres était non seulement couplée à l'activité de la mi-CK mais également à celle de l'AK mitochondriale (AK2) (Gueguen 2006).

La cinétique de resynthèse de la PCr, ainsi que l'activité de mi-CK et AK2 seraient donc des marqueurs du fonctionnement mitochondrial et plus particulièrement du mécanisme de la phosphorylation oxydative. L'étude de tous ces paramètres semble donc corroborer les observations de déclin avec l'âge des différents métabolismes impliqués que sont les métabolismes aérobie et anaérobies.

SYNTHESE

de l'effet de l'âge sur les différents métabolismes énergétiques

Au cours du vieillissement, de nombreuses modifications énergétiques se produisent, que ce soit au niveau du métabolisme aérobie, glycolytique ou de la phosphocréatine. Comme nous l'avons expliqué précédemment, il faut considérer ces métabolismes dans leur ensemble, ceux-ci interagissant les uns avec les autres. Les mécanismes de transfert énergétiques sont d'une importance capitale, permettant une flexibilité de l'organisme pour réagir aux différents besoins énergétiques (Tepp 2016). Le rôle prépondérant des différents isoformes de la créatine kinase (CK), et notamment celui de la CK mitochondriale (mi-CK) dans le flux énergétique cellulaire, nécessite donc un approfondissement en étudiant l'organisme dans son ensemble et en limitant les études sur mitochondries isolées (Tepp 2016 et 2017).

III. L'EXERCICE PHYSIQUE ET SES EFFETS SUR LE PROCESSUS DE VIEILLISSEMENT

L'exercice physique n'est plus seulement considéré comme un moyen de développer sa condition physique (performance) ou comme moyen secondaire du bien-être des individus mais est aujourd'hui un outil thérapeutique à part (décret de la loi de santé de janvier 2016). Ses effets bénéfiques sur le taux de mortalité ou sur les risques cardiovasculaires ne sont, en effet, plus à démontrer (Fried 1998, Benetos 2005, Arem 2015, Gebel 2015). Les impacts de l'activité physique sur l'organisme sont nombreux et dépendent fortement des exercices réalisés. Dans ce chapitre, nous détaillerons les principaux types d'entraînement actuellement utilisés ainsi que leurs impacts sur les différents métabolismes précédemment décrits et cela au cours du vieillissement.

A. Les entraînements de type endurance

1. Définition

La capacité d'endurance correspond à la capacité d'un sujet à maintenir une intensité élevée d'exercice sur une durée la plus longue possible. Les entraînements en endurance visent principalement l'amélioration de la résistance à l'effort et des capacités cardio-respiratoires, celles-ci étant communément représentées par le VO_{2max} . Ce dernier est donc généralement utilisé comme indicateur de la capacité d'endurance d'un sujet.

Les entraînements d'endurance ont pendant longtemps été basés sur des exercices continus, maintenant des vitesses constantes et sous maximales sur une longue durée de temps. Cependant, l'entraînement en intervalle de haute intensité (décrit plus bas) a peu à peu pris de l'importance au cours de ces dernières décennies dans les entraînements en endurance. Ces types d'entraînement en intervalle ont été principalement popularisés par Emile Zatopek, le coureur de fond triple champion olympique des jeux de Helsinki en 1952, expérimentant l'entraînement en intervalle les années qui ont précédé ces jeux. C'est en 1959 que les premiers travaux et descriptions scientifiques sur ce type d'entraînement en intervalle sont publiés, par deux chercheurs allemands Reindell et Roskamm, suscitant dès lors un intérêt particulier pour les nouveaux protocoles d'entraînement de haute intensité (Reindell et Roskam, 1959, Tschakert et Hofmann 2013).

Bien que ce type d'entraînement en intervalle ait toujours été considéré comme un entraînement en endurance, ses nombreuses différences (de protocole et de résultats) avec l'entraînement en continu le détachent peu à peu de cette étiquette, le caractérisant de plus en plus comme un entraînement à

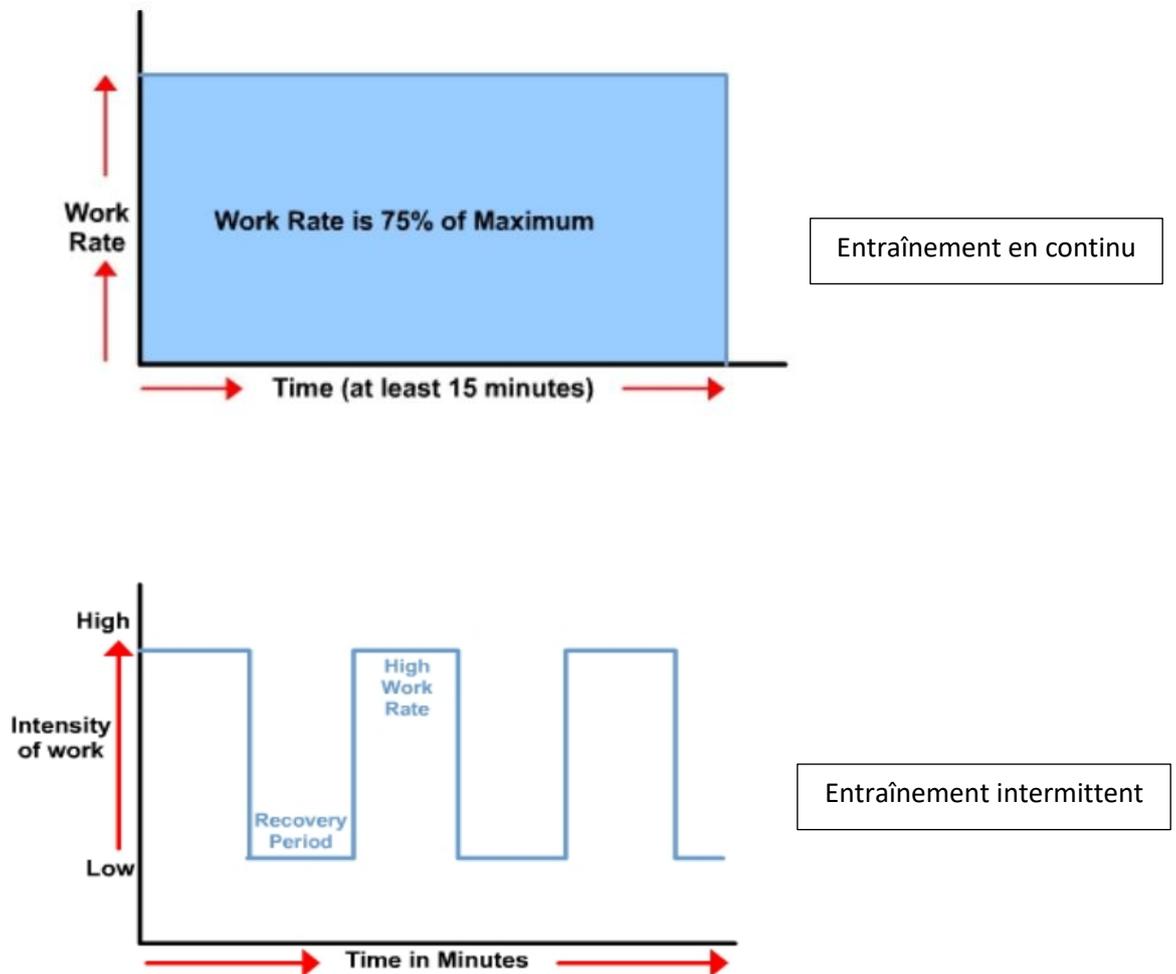
part entière sous la dénomination d'entraînement « en intervalle » ou « HIIT » (High-Intensity Interval Training) (Tschakert et Hofmann 2013). Dans la suite de cette thèse, nous le décrirons néanmoins comme un entraînement en endurance.

L'entraînement en endurance peut se pratiquer suivant différentes méthodes :

- L'entraînement en continu (Figure 14) a été le premier à être développé, il consiste en un temps d'exercice d'une durée supérieure à 30 min à une intensité constante et sous-maximale (entre 50 et 85% de VMA/PMA ou VO_{2max}). Cette intensité sous-maximale peut être exprimée en fonction de la vitesse/puissance maximale aérobie (vitesse/puissance à laquelle l'on atteint son VO_{2max}), ou en fonction de VO_{2max} lui-même.
- L'entraînement en intervalle (Figure 14) ou plus communément appelé « interval training » ou encore « HIIT » (High-Intensity Interval Training) repose sur des exercices intenses (entre 90% et 130% de VO_{2max}) entrecoupés de récupérations incomplètes et actives (50% de VO_{2max}). La durée de l'intervalle de repos servant notamment à restaurer les réserves d'ATP et de PCr utilisées pendant l'effort. Le but de ce type d'entraînement étant de s'entraîner le plus longtemps possible à une intensité proche ou supérieure de l'objectif final. Cette méthode d'entraînement possède de multiples formats d'exercices constitués de périodes d'effort allant de 10 secondes à 10 minutes alternant avec des périodes de récupération de 30 secondes à 5 minutes.
- L'entraînement intermittent (Figure 14) fait partie des entraînements de type « interval training ». Le principe repose sur des exercices intenses alternés de périodes de repos actives, à la différence que les phases de repos sont très courtes afin de maintenir une fréquence cardiaque élevée.

Dans la suite de ce chapitre nous regrouperons les entraînements intermittents et les entraînements en intervalle sous la dénomination « d'entraînement intermittents » (terme plus usité en français).

Figure 14 : Les différents types d'entraînement en endurance (continus versus intermittent) :



2. Effets des entraînements en endurance sur l'organisme vieillissant

Les principaux effets recherchés de l'entraînement en endurance sont une amélioration des performances aérobies permettant de maintenir une charge de travail relativement élevée sur une durée la plus importante possible. Les effets de ce type d'entraînement ont été largement étudiés, et si l'amélioration, à tout âge, des performances durantes par ces entraînements n'est plus à démontrer (Rossiter 2005, Betik 2009, Safdar 2011, Malek 2013, Brooks 2016), les mécanismes physiologiques et biologiques le permettant nécessitent un approfondissement. Bien que l'apprentissage d'une certaine motricité et de gestes techniques joue un rôle important dans l'apprentissage et le gain de performance, nous nous attarderons principalement sur les facteurs physiologiques et énergétiques cellulaires.

En tout premier lieu, c'est principalement l'amélioration du VO_{2max} que l'entraînement en endurance cherche à améliorer. Le VO_{2max} , souvent utilisé comme marqueur de performance aérobie, est effectivement impacté positivement par l'entraînement en endurance, chez les jeunes sujets (Betik 2008, Hoydal 2007, Hoppeler 2011) comme chez les sujets âgés (Short 2004, Huang 2005, Menshikova 2006, Ghosh 2011). Néanmoins, il n'est qu'une conséquence des altérations diverses des mécanismes centraux et périphériques. L'exercice provoque en effet des perturbations homéostatiques engendrant une modification de l'expression des gènes impactés et menant des transcriptions protéiques afin de s'adapter au stimuli, provoquant ainsi les remodelages structuraux et les ajustements fonctionnels décrits ci-dessous (Fluck 2006).

Tout d'abord, comme il a été précédemment dit, une transition très lente (Bigard 2007), des types des fibres musculaires rapides vers des fibres lentes est observée après un entraînement en endurance (Fluck 2006, Hoppeler 2011, Malek 2013). Cette transition d'une typologie glycolytique vers une typologie plus oxydative est une conséquence d'une augmentation de la quantité et de la qualité des mitochondries dans les fibres musculaires cardiaques et squelettiques (Short 2003, Menshikova 2006, Ventura-clapier 2007, Bigard 2007, Hoppeler 2011, Safdar 2011). En effet, l'entraînement en endurance engendre une augmentation de la densité et du volume mitochondrial à tout âge (Menshikova 2006, Fluck 2006, Safard 2011, Peterson 2012). Il active les cascades de réactions cytosoliques et nucléaires menant à la biogenèse mitochondriale en stimulant notamment l'activité des régulateurs clés que sont AMPK et PGC-1 α (**Figure 4**) (Ventura-clapier 2007, Hoppeler 2011, Ghosh 2011, Safdar 2011, Brooks 2016, Smiles 2016). De plus, une augmentation des enzymes du cycle de Krebs, telle que la citrate synthase (CS) (Rossiter 2005, Safdar 2011, Malek 2013) ainsi qu'une amélioration des fonctions de la chaîne respiratoire (Menshikova 2006, Fluck 2006) ont été observées après des entraînements en endurance à tout âge. Ces modifications en termes de qualité, de contenu mitochondrial et cette transition vers une typologie musculaire oxydative, après un entraînement en endurance chez des sujets jeunes et âgés, ont pour conséquence une utilisation plus importante du métabolisme oxydatif, au détriment du métabolisme glycolytique (Holloszy 1984, Jubrias 2001, Ventura-Clapier 2007, Hoppeler 2011), favorisant ainsi l'oxydation lipidique ainsi que le stockage du glucose (Hoppeler 2011, Meier 2013). Rappelons qu'il existe un effet inhibiteur du métabolisme de l'oxydation des acides gras sur le métabolisme glycolytique, confortant ces observations (Saks 2006 et 2009).

L'augmentation de l'expression de l'isoforme H de la lactate déshydrogénase (LDH-H) favorisant la formation de pyruvate à partir de lactate, au détriment de la LDH-M après un entraînement en endurance (Holloszy 1984, Bigard 2000, Hood 2001, Bigard 2007), ainsi que l'augmentation de l'expression du transporteur de lactate MCT1 (Bonen 2000, Hood 2001, Bigard 2007) principalement

présent dans les fibres oxydatives et cardiaques, permettant le captage du lactate, témoignent d'une stimulation majorée du métabolisme oxydatif après ce type d'entraînement. De même que la possible amélioration de la resynthèse de la PCr (Ventura-Clapier 2007), impactée par l'augmentation de l'isoforme mitochondrial de CK (mi-CK) (Ventura-Clapier 2007, Bigard 2007) témoignerait d'un meilleur fonctionnement mitochondrial et d'un meilleur transfert énergétique, bien que cette dernière observation nécessite des recherches supplémentaires.

Ces modifications après un entraînement en endurance permettent alors une amélioration de la capacité oxydative musculaire à tout âge (Jubrias 2001, Short 2003, Menshikova 2006, Ventura-Clapier 2007, Safdar 2011, Peterson 2012), nécessitant alors une fourniture en dioxygène et en substrat plus importante. C'est pourquoi, une angiogenèse et une augmentation de la densité capillaire par fibre est également observée après ce type d'entraînement (Rossiter 2005, Fluck 2006, Bigard 2007, Hoppeler 2011, Malek 2013) pour répondre aux besoins en oxygène. Ces altérations périphériques doivent être suivies par des adaptations centrales, c'est pourquoi le débit cardiaque doit lui aussi évoluer en conséquence, et une hypertrophie du ventricule gauche (Wisloff 2001, Kemi 2002, Ventura-Clapier 2007) est d'ailleurs observée ainsi qu'une augmentation du volume d'éjection systolique engendrant une augmentation du débit cardiaque (Ventura-Clapier 2007, Dogra 2012, Montero 2016) post-entraînement.

VO_{2max} et ses facteurs périphériques sont donc positivement impactés par l'entraînement en endurance, et cela même au cours du vieillissement (Short 2003, Menshikova 2006, Gosh 2011, Cadore 2014). Les effets de l'entraînement ne semblent d'ailleurs pas réduits avec l'avancée de l'âge (Short 2003, Rossiter 2005, Ghosh 2011, Peterson 2012) bien que cela soit encore sujet à controverses (Malbut 2002, Betik 2009). Encore une fois, le cas, bien qu'exceptionnel, de Robert Marchand améliorant sa performance (+39%) et son VO_{2max} (+13%) de 101 ans à 103 ans en est toujours un bon exemple (Billat 2017).

D'autre part, il est à préciser que les modalités d'exercice (durée, intensité, fréquence) influencent grandement les résultats obtenus, c'est pourquoi ces dernières décennies ont vu apparaître les entraînements intermittents utilisant des intensités élevées d'exercices. Ces types d'entraînement remplacent de plus en plus les entraînements en continu. En effet, en plus de permettre les mêmes adaptations que les entraînements en continu (citées ci-dessus), l'utilisation de hautes intensités engendre de meilleurs résultats quant à l'augmentation de la VO_{2max} (Kemi 2005, Hafstad 2011, Bacon 2013, Milanovic 2015), mais permet aussi une hypertrophie des fibres musculaires (Kemi 2002, Reaburn 2009) jusqu'alors très peu observée avec des entraînements continus en endurance. L'augmentation des performances anaérobies par une utilisation plus accrue du

métabolisme glycolytique (Van loon 2001, Perry 2008, Reaburn 2009, Hafstad 2011), en parallèle de l'amélioration des capacités aérobies, font aujourd'hui des entraînements intermittents des entraînements plus efficaces (Gibala 2006, Hoydal 2007, Perry 2008, Bacon 2013, Milanovic 2015). A cela s'ajoute une motivation plus importante chez les personnes âgées pour ces exercices moins monotones et moins longs que ceux des entraînements en continu (Knowles 2015, Milanovic 2015).

3. Limites de l'entraînement en endurance

Si les entraînements intermittents permettent dans certains cas une hypertrophie des fibres musculaires, l'impact sur la masse musculaire et la force reste tout de même faible (Nader 2006, Wilson 2010, Hoppeler 2011, Brooks 2016). Et pour cause, il semblerait que l'entraînement en endurance réduirait/inhiberait les voies de signalisation de la synthèse protéique interférant alors avec la prise de masse musculaire et le gain de force (**Figure 4**) (Nader 2006, Wilson 2010, Hoppeler 2011, Brooks 2016). La transition des fibres de types rapides vers les fibres de types lentes après les entraînements en endurance n'arrangerait pas ce phénomène. En effet, avec l'âge nous avons montré que cette transition s'opérait déjà induisant une diminution fonctionnelle des muscles squelettiques pour répondre à de hautes intensités d'exercice (Hunter 2004, Butler-Browne et Bigard 2006, Brooks 2016).

Il existe encore des controverses concernant l'impact des exercices d'endurance sur les ROS. Certaines études montrent une diminution de l'activité des ROS après un entraînement (Hood 2001, Brooks 2008, Quadrilatero 2011) alors que d'autres évoquent une augmentation de la production de ROS par les mitochondries, celles-ci étant plus nombreuses, plus sollicitées (Ghosh 2011, Hoppeler 2011) ou altérées avec l'âge (Bailey 2010). Cette augmentation pourrait néanmoins ne pas être un problème si les défenses antioxydantes étaient elles aussi augmentées, permettant l'équilibre oxydant/antioxydant. Or, si certaines études n'observent aucune augmentation des antioxydants (Ghosh 2011), d'autres dénotent d'une légère augmentation de ceux-ci après l'entraînement (Leeuwenburgh 1994, Ventura-Clapier 2007, Peterson 2012), cela restant tout de même insuffisant pour compenser le stress oxydant (Peterson 2012). Des études supplémentaires semblent donc nécessaires.

Il semblerait aussi que l'entraînement en endurance soit limité en termes d'amélioration des performances et de VO_{2max} , ces paramètres semblant stagner à partir de 5 semaines d'entraînement (Hoydal 2007). Cela pourrait être expliqué par une désensibilisation due à la répétabilité de l'entraînement en endurance (Hood 2001, Fluck 2006). Dans un autre registre, les entraînements en

endurance demandent de nombreuses séances par semaine (5 ou plus) à des intensités relativement basses, ainsi que de nombreuses semaines/mois d'entraînement, les rendant souvent démotivants, notamment pour les personnes âgées. Enfin, l'atteinte des intensités élevées d'exercice (jusqu'à 130% de l'intensité à VO_{2max}) lors des entraînements intermittents reste un facteur limitant trop souvent oublié. En effet, l'intensité maximale de l'exercice est atteinte en un temps très court (quelques secondes), pouvant induire des traumatismes à la fois musculaires et articulaires chez les sujets âgés.

SYNTHESE sur l'entraînement de type endurance
En résumé, chez les sujets jeunes comme âgés, l'entraînement en endurance induit une amélioration des capacités oxydatives musculaires et du VO_{2max} , par l'augmentation de la densité mitochondriale et de leur capacité à utiliser l'oxygène pour fournir de l'énergie, et ceci grâce à un apport en oxygène accru par une augmentation du débit cardiaque et du réseau capillaire. Cela permet alors d'atténuer les effets de l'âge sur la dysfonction mitochondriale actuellement considérée comme responsable du vieillissement (bien que cela soit encore débattu). Le métabolisme énergétique s'oriente alors vers un profil plus oxydatif et une utilisation plus importante des lipides comme substrat énergétique. Ces altérations sont déterminées par la modalité de l'entraînement et une intensité élevée d'exercice semble apporter de meilleurs résultats à tout âge. Néanmoins, cette méthode d'entraînement ne stimule pas, ou très peu, l'hypertrophie musculaire. Devant l'impact de la perte de masse et de force musculaire pour la réalisation des tâches quotidiennes au cours du vieillissement, il est alors impératif d'associer ce type d'entraînement à des entraînements en résistance/force.

B. Les entraînements en force

1. Définition

A la différence des entraînements en endurance se basant sur la répétabilité d'un exercice, les entraînements en force (souvent nommé « resistance training ») induisent des charges physiques importantes sur de très courtes périodes. Ces exercices sont aujourd'hui utilisés dans la quasi-totalité des entraînements sportifs, même endurants, de par leur vertu à améliorer l'influx nerveux musculaire, la force musculaire, mais aussi dans un but de gain de puissance musculaire. Rappelons que le muscle se définit par quatre qualités : l'endurance, la souplesse, la vitesse et la force. La puissance associant quant à elle les facteurs vitesse et force, d'où l'importance de la développer.

Les exercices de force peuvent se réaliser au poids de corps mais utilisent aussi très généralement des poids supplémentaires. Pour les personnes âgées, le poids de corps est très souvent suffisant. Ces entraînements vont se baser sur l'amélioration d'un ou plusieurs groupes musculaires avec des protocoles dépendant du but recherché (force ou puissance) et du sujet.

Ainsi, la plupart des études chez les personnes âgées (Evans 1999, Hunter 2004, Lambert 2005, Cadore 2014) s'accordent sur :

- une intensité d'exercice entre 60% et 80% de la répétition maximale (nommé 1RM, elle représente la charge de travail que l'individu ne pourra réaliser qu'une seule fois, en d'autres termes : sa force maximale pour un exercice donné)
 - o proche de 60% pour un travail de puissance musculaire (permettant une réalisation plus rapide et d'ainsi travailler en force*vitesse)
 - o proche de 80% pour un travail sur la force musculaire
- Entre 2 et 4 séries de 8 à 12 répétitions (suivant le niveau du sujet et l'intensité choisie)
- 2 à 3 séances par semaine pendant 6 à 24 semaines.

Bien entendu, tout comme les entraînements en endurance, la réponse à l'exercice sera différente pour chaque individu, et principalement chez les personnes âgées chez qui la perte de masse et force musculaire (sarcopénie) est importante et hétérogène. L'individualisation de ce type d'entraînement chez les personnes âgées est donc indispensable.

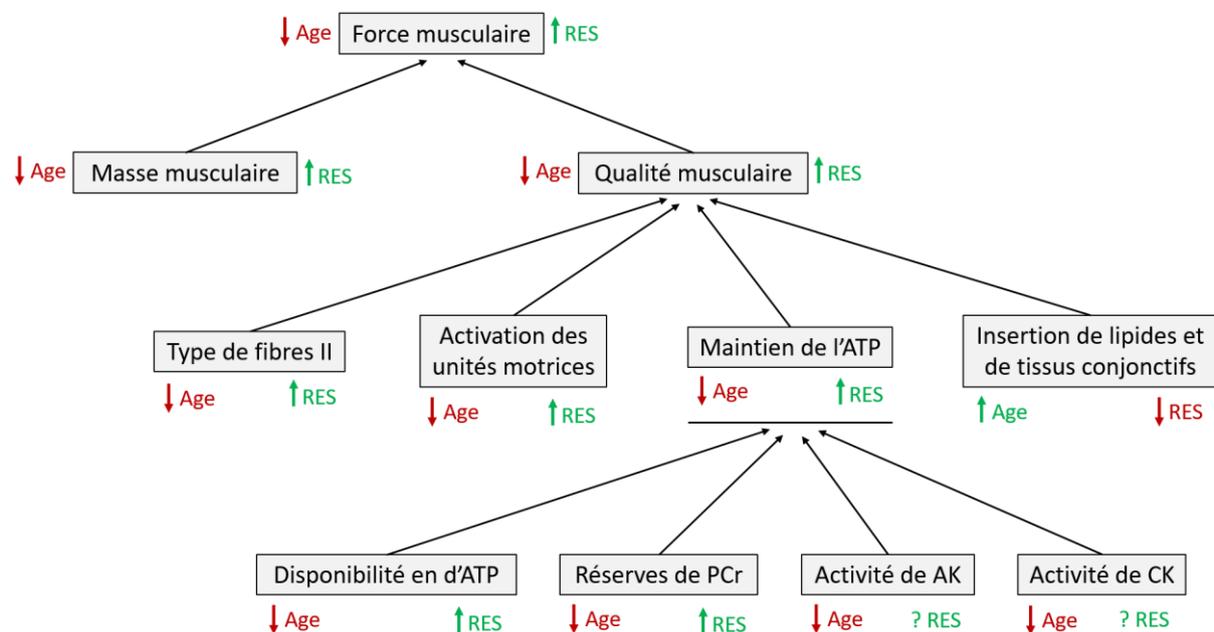
2. Effet des entraînements en résistance/force sur l'organisme vieillissant

L'objectif final d'un entraînement en résistance est le plus généralement le gain de force ou de puissance (force*vitesse) d'un groupe musculaire. Ce gain de force peut provenir de l'altération de deux paramètres principaux que sont : une hypertrophie musculaire et une amélioration de la qualité contractile musculaire (Hunter 2004) (**Figure 15**). Le gain de puissance se réalisera dans un second temps, en ajoutant le paramètre : vitesse d'exécution ou vélocité.

Le gain de force musculaire passe dans un premier temps par une amélioration neuromusculaire. En effet, plusieurs études chez des sujets âgés ont montré que les premières altérations observées étaient une meilleure activation des unités motrices par un contrôle neuromusculaire plus efficace (Parise 2005, Hunter 2004, Hoppeler 2011, Cadore 2014), augmentant ainsi le recrutement des fibres musculaires et la qualité contractile (**Figure 15**).

Cette amélioration de la qualité contractile musculaire passe aussi par une augmentation de la disponibilité en ATP au niveau des myofibrilles (Hunter 2004) après un entraînement en résistance. Cette disponibilité accrue pourrait être due à une augmentation de l'activité de la créatine kinase (CK) et de l'adénylate kinase (AK) (Hunter 2004) améliorant le flux énergétique. Une augmentation du contenu protéique en CK mitochondriale (mi-CK) a d'ailleurs été observée après 14 semaines d'entraînement en résistance chez des hommes âgés (Parise 2005). Considérant le peu d'étude sur le sujet, ces suppositions restent tout de même à vérifier (**Figure 15**).

Figure 15 : Effet de l'âge et de l'entraînement en résistance sur la force musculaire (inspiré de Hunter 2004). (Age : représente l'effet de l'âge, et RES : représente l'effet d'un entraînement en résistance ; les flèches rouges symbolisent une diminution et les flèches vertes une augmentation).



Concernant les transitions de phénotypique musculaire, les recherches ne sont pas encore claires. Si la plupart notent une transition des fibres de types IIx et IIb vers les types IIa (Lambert 2005, Bigard 2007, Hoppeler 2011) certaines observent une diminution des fibres de type IIa (Balagopal 2001) ou encore n'observent aucune conversion (Jubrias 2001). D'une manière générale, il semble tout de même que l'entraînement en résistance augmente la taille des fibres musculaires de tous types I et IIa et IIb (Hakkinen 2002, Lambert 2005, Reaburn 2009, Churchward-venne 2015) avec une augmentation plus importante pour les fibres de type IIa (Lambert 2005, Hoppeler 2011), menant alors à une hypertrophie musculaire quel que soit l'âge des sujets (Jubrias 2001, Hunter 2004, Reaburn 2009, Koopman 2009, Hoppeler 2011, Churchward-Venne 2015). Cette hypertrophie musculaire est due à une augmentation du ratio anabolisme/catabolisme protéique. En effet, bien que l'entraînement en

résistance augmente le catabolisme protéique (Koopman 2009), la synthèse protéique est elle-même très largement augmentée, principalement par la stimulation de la voie de signalisation mTOR (Koopman 2009, Hoppeler 2011, Brooks 2016, Smiles 2016) mais aussi par une inhibition de l'activité de la myostatine (Kim 2005, Koopman 2009).

Bien que la magnitude d'augmentation de la force, induite par l'amélioration de la qualité contractile et l'hypertrophie musculaire, ne semble pas réduite avec l'âge (Parise 2005, Lambert 2005, Koopman 2009, Cadore 2014), le gain de masse musculaire total après un entraînement semble être moins important chez les personnes âgées (Hunter 2004, Lambert 2005). En effet, l'hypertrophie myofibrillaire est similaire chez les jeunes sujets comme chez les sujets âgés après un entraînement en résistance, mais le nombre de myofibrilles diminuant avec l'âge, le gain de masse musculaire totale sera donc impacté (Hunter 2004, Lambert 2005). Ce phénomène s'explique encore une fois par un problème de déséquilibre entre anabolisme et catabolisme avec l'âge, dans le cas présent concernant la synthèse protéique et la protéolyse.

Si les récentes études s'intéressent de plus en plus aux entraînements en résistance, c'est que l'augmentation de la force musculaire permet d'améliorer directement les capacités fonctionnelles des personnes âgées (Hunter 2004, Koopman 2009, Cadore 2014), leur permettant ainsi de réaliser plus facilement les tâches quotidiennes (Lambert 2005) qui seraient devenues de plus en plus difficiles avec l'avancée de l'âge et la sarcopénie/dynapénie.

Etrangement, bien que ce type d'entraînement sollicite principalement le métabolisme anaérobie, une amélioration des capacités oxydatives a été observée chez les sujets âgés (Jubrias 2001, Parise 2005, Melov 2007, Ozaki 2013). Cette amélioration, tout de même moindre qu'avec un entraînement en endurance, serait majoritairement due à une baisse de la dysfonction mitochondriale (Parise 2005, Melov 2007, Peterson 2012). Cette amélioration qualitative de la mitochondrie serait due à une amélioration des défenses antioxydantes après un entraînement en résistance chez les sujets âgés (Parise 2005, Melov 2007, Peterson 2012), diminuant les dommages oxydatifs au profit d'une chaîne respiratoire plus efficace (Parise 2005, Peterson 2012), le contenu mitochondrial n'étant quant à lui que très peu affecté (Jubrias 2001, Parise 2005, Hoppeler 2011). Le système cardiorespiratoire (VES, VO_{2max}) semble aussi pouvoir être amélioré par ce type d'entraînement chez les sujets âgés (Shaw 2005, Lovell 2009, Ozaki 2013).

Le métabolisme glycolytique serait lui aussi impacté par l'entraînement en résistance, en améliorant le transport et le captage du glucose. Ceci serait notamment dû à une augmentation des protéines de transport du glucose GLUT4 (Flack 2011) et une accentuation de la sensibilité à l'insuline (Ryan 2000, Flack 2011, Sundell 2011), engendrant une amélioration de l'homéostasie du glucose sanguin. Ces

effets permettent ainsi d'améliorer le métabolisme glycolytique en augmentant le stockage et l'utilisation du glucose (Flack 2011, Hoppeler 2011) tout en réduisant les risques de diabète (Flack 2011, Sundell 2011).

Les interférences existantes entre les entraînements en endurance et en résistance sont toujours sujettes à controverses (Hunter 2004, Coffey 2007, Wilson 2010). Néanmoins, si l'association d'exercice en endurance semble effectivement diminuer/inhiber la réponse à l'entraînement en force (Kraemer 1995, Putman 2004, Nader 2006), les exercices en force ne semblent en revanche pas empêcher l'amélioration des capacités oxydatives chez les personnes âgées (Jubrias 2001, Parise 2005, Shaw 2005, Melov 2007, Ozaki 2013, Peterson 2012), bien qu'ils soient tout de même moins efficaces.

3. Limites des entraînements en résistance/force

Actuellement, l'entraînement en résistance ne semble pas apporter de limites aux adaptations possibles des différents métabolismes énergétiques, ce type d'entraînement ne semblant pas inhiber le métabolisme aérobie. Néanmoins, les améliorations cardiorespiratoires et mitochondriales restent moins importantes avec ce type d'entraînement. Connaissant l'impact des maladies cardiovasculaires chez l'Homme, première cause de décès dans le monde (OMS), l'entraînement en résistance seul semble donc d'un intérêt limité. De même, la mitochondrie étant au cœur des théories concernant le vieillissement, il semble important d'améliorer sa fonction, en termes de qualité et de quantité, ce dernier point étant encore trop peu développé par l'entraînement en résistance.

Bien que les effets bénéfiques de l'entraînement en force chez les personnes âgées ne soit plus à démontrer, il existe tout de même des limites d'un point de vue protocolaire. En effet, ces types d'entraînement utilisent généralement de lourdes charges, pouvant rendre les exercices traumatisants musculairement et au niveau des insertions tendineuses. En effet, les articulations, souvent très affaiblies avec l'avancée de l'âge, sont fortement sollicitées ce qui pourrait causer des blessures articulaires ou musculaires si le geste est mal réalisé ou la charge choisie inadéquate. Le suivi individuel est donc d'importance cruciale pour limiter les risques de blessures.

SYNTHESE

sur l'entraînement en force

L'entraînement en résistance/force impacte fortement les qualités contractiles et l'hypertrophie musculaire, engendrant un gain de force important. Ce gain de force semble aujourd'hui un facteur indispensable pour l'amélioration de la qualité de vie chez les personnes âgées. De plus, l'augmentation de la qualité mitochondriale par la diminution du stress oxydant et l'amélioration du métabolisme glycolytique et des paramètres cardiorespiratoires en fait un entraînement plus complet qu'il n'y paraît. Néanmoins, de par ses limites en termes d'améliorations cardiovasculaires et mitochondriales, en plus des limites protocolaires qu'apporte ce type d'entraînement chez les personnes âgées (charges lourdes), l'emploi d'exercice d'endurance semble donc aussi indispensable. C'est pourquoi les recherches s'intéressent aujourd'hui à des entraînements combinés force-endurance (Cadore 2014). Les interférences potentielles de ces deux types d'entraînement restent néanmoins un problème dont la résolution pourrait se trouver dans un nouveau type d'entraînement.

C. L'entraînement en accélération, une hypothèse

1. Principes et avantages de l'entraînement

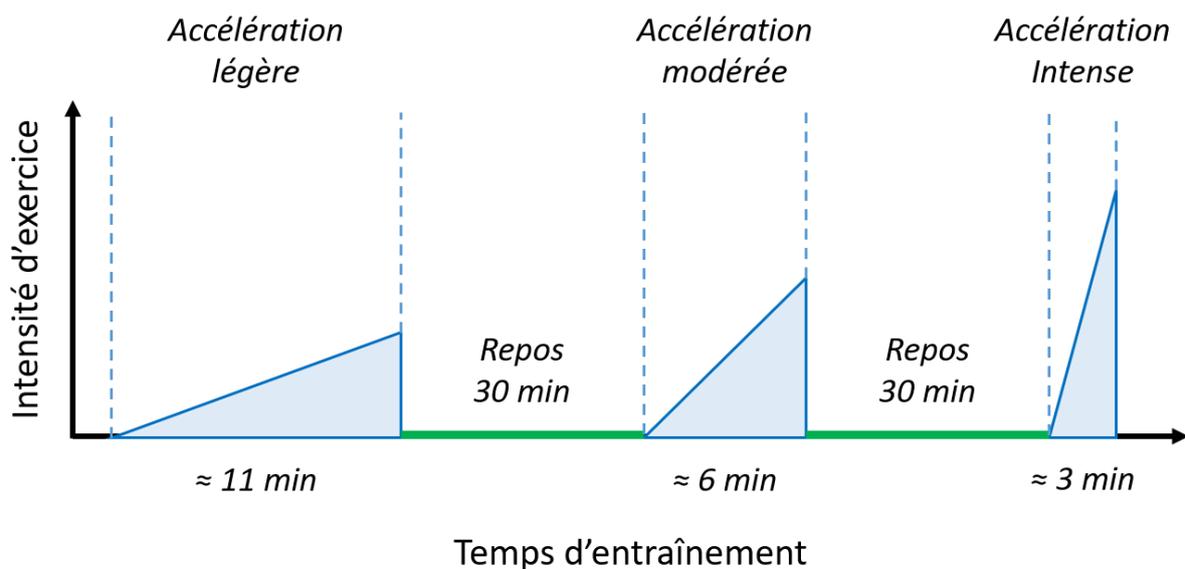
Comme nous venons de le voir, les entraînements actuellement existants sont efficaces dans un domaine spécifique. Les entraînements en endurance influencent positivement les capacités cardiovasculaires et respiratoires, ainsi que les capacités oxydatives musculaires. Les entraînements en résistance quant à eux, impactent principalement la force musculaire et compensent en partie l'atrophie musculaire due à la sarcopénie. Un point d'honneur est à donner aux entraînements en intervalle/intermittents (HIIT), qui semblent engendrer de plus importantes adaptations sur l'ensemble des métabolismes énergétiques.

Nos travaux ont notamment débuté grâce à ces observations. L'objectif étant de créer un nouveau protocole d'entraînement le plus efficient possible chez les personnes âgées, utilisant et sollicitant l'ensemble des métabolismes énergétiques et donnant des résultats bénéfiques sur une courte période d'entraînement.

L'entraînement en accélération, un nouveau protocole d'entraînement créé par notre laboratoire apporte une possible réponse aux limites des précédents protocoles exposés ci-dessus.

L'entraînement en accélération repose sur un enchaînement de 3 accélérations différentes, chacune réalisées jusqu'à épuisement et entrecoupées d'un repos de 30 minutes (**Figure 16**). La première accélération est douce (interprétée arbitrairement par l'individu ou imposée pour le rongeur). La deuxième accélération est moyenne et la troisième est forte. Il faut savoir que si l'Homme ne peut que très difficilement ressentir/contrôler sa vitesse (sans indicateur il est difficile de dire à quelle vitesse nous courrons ou à quelle vitesse roule une voiture), il est en revanche parfaitement capable ressentir/contrôler une accélération ou une décélération. Ainsi, il est possible de demander à une personne d'augmenter légèrement/modérément/intensément sa vitesse de course jusqu'à épuisement. Ces tests ont été réalisés chez l'homme dans notre laboratoire sous le contrôle de Véronique Billat (étude pilote) et il est apparu que chaque sujet mettait le même temps pour atteindre l'épuisement dans chaque accélération (environ : 11 minutes pour l'accélération légère / 6min pour l'accélération modérée / 3 minutes pour l'accélération forte).

Figure 16 : Modèle d'entraînement en accélération



Certaines hypothèses ont été posées concernant ce nouveau protocole d'entraînement.

L'avantage premier qui apparaît est la possibilité pour l'Homme de réaliser ce type d'entraînement sans matériel et sans intervention extérieure, l'individualisation se réalisant par l'individu lui-même.

En raison de ses similitudes avec l'entraînement en intermittent (atteinte d'intensités maximales d'exercice, variation de vitesse), cet entraînement semble permettre un travail sur l'ensemble des métabolismes et pourrait être moins démotivant qu'un entraînement continu en endurance.

D'autre part, à la différence des entraînements intermittents ou en résistance, ce nouveau protocole n'atteint pas les intensités maximales d'exercice brusquement, mais de façon progressive et sans traumatisme musculaire ou articulaire autre que ceux dus à la course. Ce paramètre est un facteur des plus importants, notamment lorsque cela concerne les sujets âgés.

Enfin, la force se définissant comme l'accélération d'une masse (Newton), le travail en accélération pourrait alors permettre un premier processus d'amélioration douce de la qualité de la force musculaire.

L'entraînement en accélération est donc une hypothèse de notre laboratoire utilisant les avantages des entraînements existants tout en limitant les inconvénients.

SYNTHESE GENERALE

de l'état de l'art

Le vieillissement se caractérise par de nombreuses altérations, occasionnant une diminution des capacités cardiorespiratoires communément représentées par le VO_{2max} . Actuellement, bon nombre d'études se focalisent sur la théorie mitochondriale du vieillissement, suggérant que les altérations avec l'âge sont principalement dues à une dysfonction de la quantité et de la qualité mitochondriale. Bien que le débat soit encore ouvert, il semble assez clair que la dysfonction mitochondriale ait un impact sur le processus de vieillissement. Il en est de même pour l'atrophie et la perte de force musculaire avec l'âge (sarcopénie/dynapénie) jouant un rôle indéniable dans la perte des capacités fonctionnelles des personnes âgées, réduisant leur aptitude à réaliser les tâches du quotidien. Mais la diminution de l'activité physique est-elle réellement une conséquence du vieillissement ou en est-elle la cause ? La réponse à cette question n'est pas résolue, mais il est clair que ces deux mécanismes sont liés et s'influencent fortement. En effet, il est montré que l'activité physique, si elle est correctement pratiquée, apporte de nombreux effets bénéfiques sur l'organisme. Bien que ces effets, décrits précédemment, permettent une amélioration des fonctionnalités physiologiques et intégratives chez les personnes âgées, réduisant les risques de certaines maladies (cardiovasculaires, insulino-dépendantes), le déclin de ces fonctionnalités avec l'âge reste encore et toujours inéluctable. Le reconditionnement de l'être humain vers une attitude de vie moins sédentaire à tout âge reste donc indispensable et représente l'objectif final de ces travaux.

PREMIERE ETUDE :

I. EVALUATION D'UN NOUVEAU PROTOCOLE D'ENTRAÎNEMENT A COURT

TERME : L'ACCELERATION (Article 1).

A. Contexte

L'activité physique impacte considérablement et positivement les performances physiques et physiologiques ainsi que les différents métabolismes énergétiques à tout âge. Néanmoins les méthodes d'entraînement actuelles, bien qu'efficaces chez les sujets âgés, sont relativement longues : de 4 à 24 semaines pour la plupart des entraînements. Dans ce contexte de vieillissement et d'augmentation de la sédentarité, l'obtention de résultats plus rapides avec un temps d'entraînement plus court pourrait donc être un facteur motivant chez les sujets âgés, principalement si les résultats obtenus impactent l'ensemble du métabolisme.

C'est ce qui nous a conduit à étudier un tout nouveau protocole d'entraînement à court terme : l'accélération chez des sujets âgés, les sujets en question étant ici des souris. L'objectif prioritaire était d'analyser l'efficacité de ce protocole sur les performances mais aussi d'un point de vue intégratif et de comparer ses résultats à ceux d'un entraînement continu en endurance. Partant du constat que les entraînements en intermittent et en force pouvaient être traumatisants pour des sujets âgés, la comparaison avec ces types d'entraînement n'a pas été réalisée dans ces travaux.

B. Méthodologie

1. Les animaux : caractéristiques

Cette étude portant sur les effets intégratifs de notre entraînement et nécessitant par conséquent des travaux invasifs, le modèle animal a été choisi comme sujet d'étude. Les souris présentent de nombreux avantages comme la limitation des biais expérimentaux grâce à leurs conditions communes de vie et d'alimentation, leur disponibilité et la possibilité de réaliser de nombreuses analyses anatomiques, biologiques et biochimiques. Ces points sont cruciaux, notamment lorsque, ne connaissant pas exactement les effets obtenus, il est nécessaire d'envisager des analyses supplémentaires et de conserver des échantillons pour de futures mesures.

Le modèle animal utilisé dans cette étude était 36 souris C57Bl6 âgées de 23 mois, correspondant à environ 70 ans chez l'homme (Furkley 2007) et provenant de « Janviers Labs » (Le Genest Saint Isle, France). Ces souris ont été aléatoirement divisées en 3 groupes : Contrôle (n=11), Accélération (n=14)

et Endurance (n=11), et gardées par groupe de 3 ou 4 par cage dans un environnement libre de tout pathogène opportuniste, au Centre d'Exploration et de Recherche Fonctionnelle Expérimentale (CERFE Genopole, Evry, France) à une température de 22°C, dans une cycle jour-nuit de 12h-12h avec accès à la nourriture sans restriction.

2. Les protocoles d'entraînement : accélération et endurance

Les souris ont donc été séparées en 3 groupes distincts : un groupe Contrôle qui ne réalisait pas d'entraînement physique, un groupe réalisant un entraînement en accélération et un groupe pratiquant un entraînement en endurance. Les entraînements et les familiarisations ont été réalisés sur un tapis roulant Columbus (1050-G3-Exer 3/6, Columbus Instruments, OH, USA) à 0° degré d'inclinaison équipé d'une grille électrique à bas voltage (1,4 mA à une fréquence de 2Hz).

Avant de débiter les différents entraînements, toutes les souris ont été familiarisées pendant 5 jours suivant le protocole suivant :

- Jour 1 : 0 m.min⁻¹ pendant 10 minutes afin de s'habituer au tapis et à l'environnement (grille de choc,...) puis 10 minutes à 3 m.min⁻¹,
- Jour 2 : 3 m.min⁻¹ pendant 5 minutes puis 6 m.min⁻¹ pendant 5 minutes,
- Jour 3 : 6 m.min⁻¹ pendant 10 minutes,
- Jour 4 : 6 m.min⁻¹ pendant 5 minutes puis 10 m.min⁻¹ pendant 5 minutes,
- Jour 5 : 10 m.min⁻¹ pendant 10 minutes (incrémentations progressive jusqu'à 10 m.min⁻¹).

Après cette familiarisation et un premier test triangulaire (Prétest), les souris du groupe Accélération ont réalisé l'entraînement suivant :

- 5 séances d'entraînement sur 10 jours, avec un jour de repos entre chaque séance.
- Chaque séance était constituée d'une course sur le tapis Columbus en commençant par une accélération faible (3 m.min⁻²) jusqu'à épuisement, suivie d'une accélération modérée (6 m.min⁻²) jusqu'à épuisement et enfin d'une accélération forte (12 m.min⁻²) jusqu'à épuisement, chacune entrecoupée de 30 minutes de repos (**Figure 17a**)

Les valeurs d'accélération ont été choisies au terme d'une étude pilote de notre laboratoire sur l'homme et adaptées à la souris à la suite de tests préalables, afin de correspondre au mieux au temps de pratique chez l'homme, tout en considérant qu'il s'agissait de souris âgées.

Concernant l'entraînement en endurance, il consistait en :

- 5 séances d'entraînement par semaine pendant 4 semaines (2 jours de repos le samedi et dimanche)
- Chaque séance était constituée d'une heure de course sur le tapis Columbus à 50% de la vitesse maximale que chaque souris a atteinte lors du dernier test triangulaire réalisé (50% de V_{peak}) (**Figure 17b**). L'intensité était ajustée grâce un test triangulaire remplaçant la dernière séance d'entraînement à la fin de la première et deuxième semaine d'entraînement

Le choix de cette intensité minimale d'exercice (50% de V_{peak}) a été fait en considérant l'âge important de la souris et sa difficulté à maintenir une vitesse trop élevée pendant longtemps. En contrepartie, le volume de la séance a été augmenté (1h contre 45 minutes pour la plupart des études). Le VO_{2max} de ces souris étant atteint très tôt lors des tests triangulaires, il était alors préférable de prendre la vitesse maximale (V_{peak}) comme paramètre d'intensité de l'exercice, les valeurs de courses auraient été bien trop faibles en prenant un pourcentage de VO_{2max} .

Figure 17 : les différents protocoles d'entraînement (accélération versus endurance)

Figure 17a: séance d'entraînement en accélération:

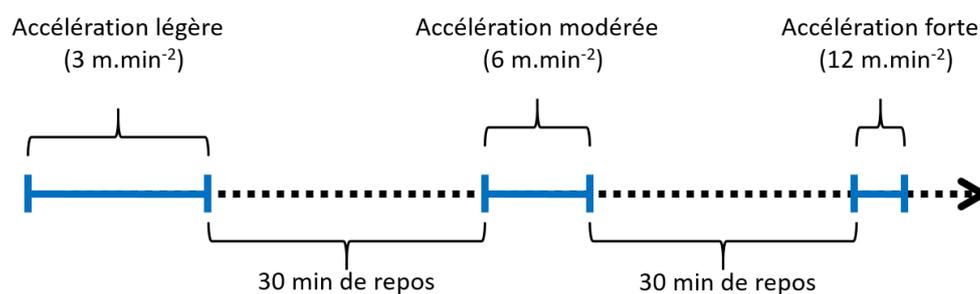
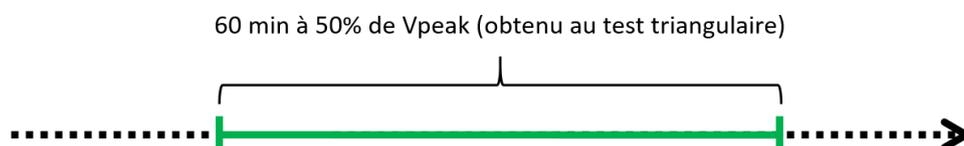


Figure 17b: séance d'entraînement en endurance:



Pendant la durée de l'étude, les souris contrôles ont quant à elles été accoutumées au tapis 2 fois par semaine à une vitesse de 10 m.min⁻¹ pendant 10 minutes, afin de garder une certaine familiarisation avec le tapis sans toutefois provoquer d'effet d'entraînement.

3. Evaluation de la performance

Une semaine avant et une semaine après les différents entraînements, toutes les souris (groupe contrôle inclus) ont réalisé un test triangulaire sur un tapis roulant Columbus à une voie permettant la mesure des échanges de gaz (Modular Enclosed Metabolic Treadmill, Columbus Instruments) (**Photo 1**). Ce test triangulaire se déroulait systématiquement selon le protocole suivant :

- 8 minutes d'enregistrement au repos
- puis début de l'exercice à $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ et incrémentation de $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ toutes les 3 minutes jusqu'à épuisement (définie comme le moment où la souris reste en contact de la grille électrique pendant plus de 5 secondes). Tout l'exercice se faisant sans inclinaison (0°).
- puis 4 minutes et 30 secondes d'enregistrement en phase de récupération (repos)

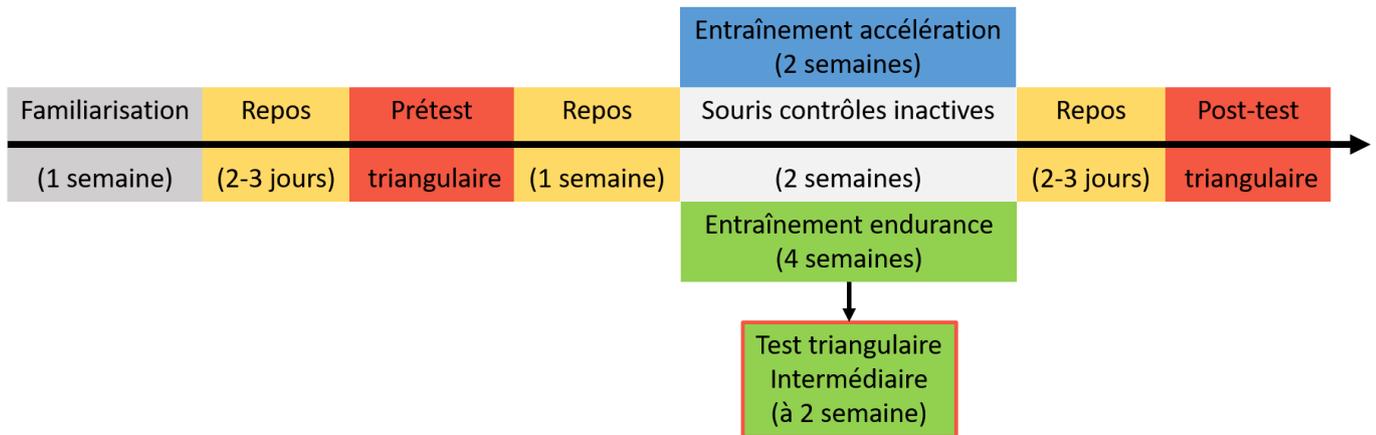
Photo 1 : Souris C57Bl6 sur tapis roulant Columbus analyseur d'échanges de gaz.



Les mesures de gaz étaient réalisées automatiquement toutes les 5 secondes par l'analyseur de gaz Columbus calculant la consommation d'oxygène (VO_2). Pour permettre la comparaison avec les valeurs sur l'humain, le VO_2 était exprimé en $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{0.75}$. $\text{VO}_{2\text{max}}$ était alors mesuré comme le VO_2 maximal atteint et maintenu au minimum 30 secondes successives sans variation de plus de 1% du $\text{VO}_{2\text{Reserve}}$, ce dernier correspondant au $(\text{VO}_{2\text{max}} - \text{VO}_{2\text{min}})$. Cette méthode de mesure a été choisie comme référence pour nos études et un article en tant que second auteur a été publié (Ayachi 2016) (**Article 2**).

Lors de ce test la performance était aussi évaluée et se représentait par la vitesse maximale atteinte V_{peak} (correspondant à la vitesse du dernier palier maintenu un minimum de 30 secondes) et par le temps total de l'exercice avant épuisement nommé « Temps limite », ces deux paramètres étant bien évidemment liés. Enfin, la lactatémie était elle aussi mesurée 5 minutes après l'arrêt du test, en prélevant une goutte de sang provenant d'une veine de la queue, grâce au Lactate Pro LT-1710 (Arkay Inc., Kyoto, Japan).

Résumé chronologique du protocole de l'étude :



4. Méthode de sacrifice : prélèvements musculaires et urinaires

Vingt-quatre heures après le test triangulaire post-entraînement (post-test) et plus de trois jours après la dernière session d'entraînement, nous avons sacrifié les souris par infusion intrapéritonéale de pentobarbital à une dose de 100 mg/kg. Lors de ce sacrifice, le ventricule gauche du muscle cardiaque et les muscles squelettiques : gastrocnémien, extensor digitorum longus, soleus et quadriceps ont été immédiatement récupérés, plongés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C. Un échantillon d'urine a aussi été collecté lorsque cela était possible et stocké à -80°C.

5. Respiration mitochondriale

Dans cette étude, le taux basal (V_0) et maximal (V_{max}) de la respiration mitochondriale des fibres musculaires squelettiques (gastrocnémien et soleus) et cardiaque (ventricule gauche) de toutes les souris (groupe contrôle, accélération et endurance) a été étudié. Ces mesures ont été réalisées *in situ* dans les fibres perméabilisées à la saponine en utilisant la méthode de Kuznetsov et al. (Kuznetsov 2008).

Dans cette étude, nous avons déterminé les paramètres cinétiques de l'ADP en fonction du type musculaire. La respiration stimulée par l'ADP (V_{ADP}) a été déterminé en fonction de la concentration d'ADP ajoutée [ADP]. Les taux respiratoires ont été déterminés avec une électrode Clark (Strathkelvin Instruments, Motherwell, UK) dans une cellule oxygraphique contenant 15-20 faisceaux de fibres dans 3 ml de solution R (ci-après) à 22 ° C sous agitation continue. La solubilité de l'oxygène a été prise à 230 $\mu\text{mol O}_2 / \text{L}$.

Ainsi, après l'isolation des muscles concernés, des faisceaux de fibres (100-250 μm de diamètre) ont été excisés du gastrocnémien blanc, du soleus et du ventricule gauche puis séparés en petits faisceaux dans la « skinning » solution (S) sous une loupe de laboratoire. Les faisceaux obtenus dans une coupelle contenant la « skinning » solution (S) ont alors été incubés pendant 30 minutes sous agitation dans la « skinning-saponine » solution contenant 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de saponine permettant de perméabiliser le sarcolemme. Une fois ces faisceaux perméabilisés et après les étapes de lavage dans la solution S, ils ont été transférés dans la solution de respiration R pendant 10 minutes, dans le but de les laver des adénines nucléotides et de la phosphocréatine. Toutes ces procédures ont été effectuées à 4°C.

Le taux de respiration initial (V_0) a été déterminé en plaçant les faisceaux de fibre dans la solution R, sans présence d'MgADP. Par la suite, des concentrations croissantes de MgADP ont été régulièrement ajoutées tout en mesurant l'évolution du taux de respiration (V_{ADP}). A la dernière addition de MgADP (concentration finale totale : 2mM), le taux maximal de respiration (V_{max}) a alors été déterminé. Le V_{ADP} a été calculé par un ajustement non-linéaire de l'équation de Michaelis-Menten. V_{max} représentait la somme de $V_{\text{ADP}} + V_0$, et l'acceptor control ratio (ACR) était définie comme le ratio V_{max}/V_0 . L'ACR est généralement utilisé comme indicateur des fonctions générales de la mitochondrie et représente la différence entre les fonctions mitochondriales avec ou sans ADP. Après ces différentes étapes, les faisceaux ont été retirés puis séchés afin d'exprimer le taux de respiration en $\mu\text{moles d'O}_2$ par minute et par gramme de poids sec.

Solution S et R :

Les deux solutions S et R contiennent 10 mM de tampon EGTA / Ca-EGTA (concentration libre de Ca^{2+} , 100 nM), 3 mM de Mg^{2+} libre, 20 mM de taurine, 0,5 mM de DTT et 20 mM d'imidazole. La force ionique a été ajustée à 0,16 M par addition de méthanesulfonate de potassium. La solution S (pH 7,1) contenait également 5 mM de MgATP et 15 mM de phosphocréatine (PCr). La solution R (pH 7,1) contenait 3 mM K_2HPO_4 , 5 mM glutamate, 2 mM malate. Juste avant le début de l'expérimentation, on a ajouté de l'albumine de sérum bovin (BSA) sans trace d'acides gras (concentration finale : 2 mg/mL) à la solution R (pH 7,1).

6. Activité enzymatique (CK, AK, CS, LDH)

L'activité enzymatique de différentes enzymes (CK, AK, CS et LDH) a été réalisée sur les fibres musculaires du quadriceps (fibres mixtes) et du ventricule gauche du cœur. Les tissus congelés du quadriceps et du cœur ont, en premier lieu, été homogénéisés (protocole **annexe 1**). Les activités enzymatiques totales de la citrate synthase (CS), de la lactate déshydrogénase (LDH), de l'adénylate

kinase (AK) et de la créatine kinase (CK) ont ensuite été mesurées grâce à un spectrophotomètre suivant différents protocoles (CS : **annexe 2**, LDH : **annexe 3**, AK et CK : **annexe 4**).

7. Analyse du métabolome urinaire

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode permettant d'analyser les caractéristiques de l'aimantation des noyaux atomiques (**Figure 18**). C'est l'une des méthodes permettant l'analyse multiparamétrique d'échantillons biologiques donc l'étude du métabolome. En appliquant un champ magnétique extérieur à un échantillon (d'urine par exemple), les noyaux des atomes choisis (Hydrogène, Carbone...) composant l'échantillon interagissent alors différemment suivant leur environnement chimique (les autres atomes l'entourant). Les signaux RMN dépendent de l'environnement chimique de chaque noyau observé et donc de la nature chimique des molécules contenues dans l'échantillon. La spectrométrie RMN du proton permet la détermination du contenu en métabolites d'un échantillon et ceci de manière quantitative puisque l'intensité du signal RMN dépend directement des quantités contenues dans l'échantillon.

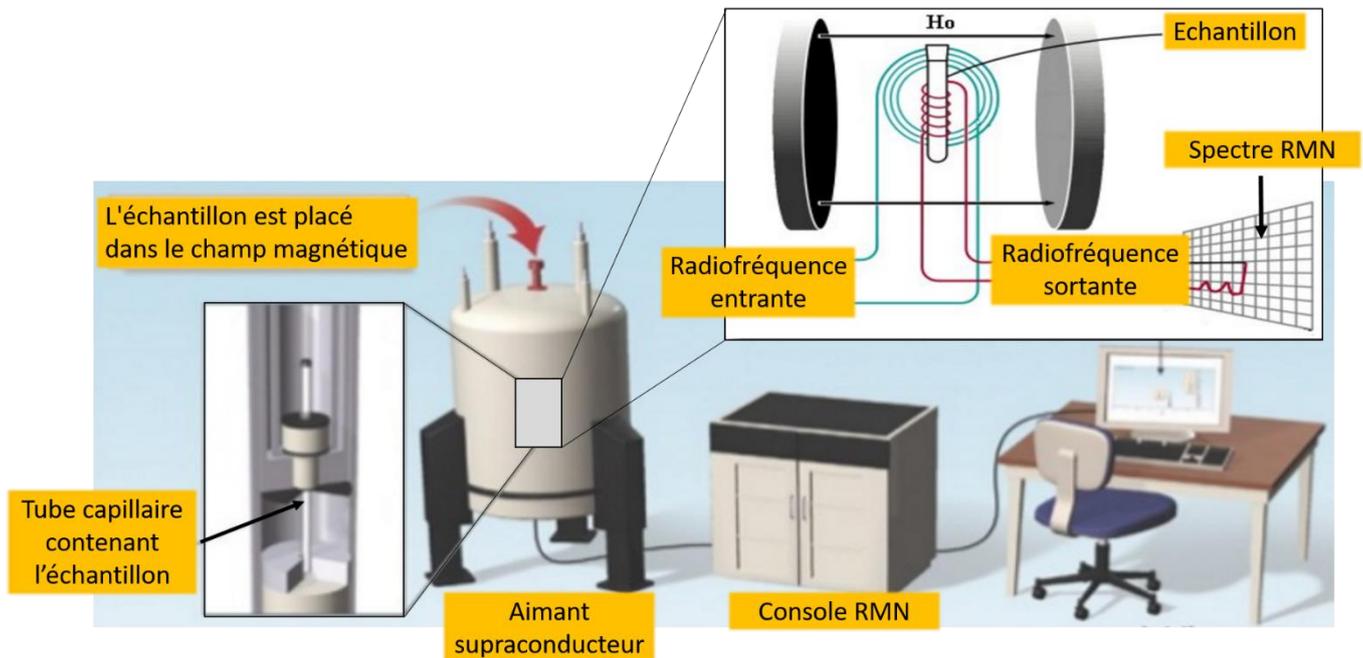
Ainsi, après une décongélation à température ambiante, des aliquots de 100 µL d'urines de chaque souris ont été placés dans des tubes capillaires pour analyse RMN. Le support du tube capillaire a été rempli d'oxyde de deutérium (D₂O), permettant le verrouillage du champ magnétique. Les spectres de proton ont été acquis à 600 MHz sur un spectromètre Bruker Avance avec une cryosonde inverse et à une température de 294 K (soit 20,85 °C). Les signaux de décroissances d'induction libres (ou FID : « free induction decay ») ont été acquis en utilisant une séquence NOESY1D pour la suppression de l'eau, avec un délai d'acquisition de 2 secondes, un temps de mélange de 100 ms et une impulsion de 90°. Les FID ont été collectés sur 64K points complexes avec une fenêtre spectrale de 6600 Hz et 64 scans. Ces FID ont ensuite été traités grâce au logiciel NMRpipe (Delaglio 1995). Une transformée de Fourier avec un filtre exponentiel a été réalisée sur les données récoltées (produisant un élargissement des raies de 1 Hz). Les spectres ont été phasés et la correction de la ligne de base a été effectuée par segments (de 0 à 5 ppm et de 5 à 9 ppm). L'échelle des déplacements chimiques est calibrée au signal de la créatinine à 3,05 ppm. Le spectre entre 0 ppm et 9,5 ppm a été divisé en 9500 régions de 0.001 ppm (communément appelé « Bucket ») dont les surfaces ont été calculées par un code écrit avec le logiciel R. Chaque bucket a été étiqueté par son déplacement chimique moyen générant une matrice X, dont chaque ligne est un spectre et chaque colonne un bucket ou variable. La région de 4.6 à 5 ppm contenant le signal de l'eau a été exclue de la matrice de données. Les spectres ont été normalisés par la méthode « probabilistic quotient » (Meyer 2003). Les buckets (variable de la matrice X) ont été centrés normés avant une analyse statistique multivariée. Cette matrice sert

également à aligner les spectres à l'aide de la méthode icoshift (Savorani 2010) permettant de corriger l'effet du pH sur les déplacements chimiques des métabolites.

Une analyse des composantes principales (PCA) est appliquée à cette matrice X pour détecter toute séparation possible entre les groupes, basée sur la variabilité du signal RMN et les éventuels spectres aberrants. Un modèle OPLS (orthogonal projection on latent structure) a été calculé sur la matrice X dans le but d'identifier des différences entre les spectres des échantillons en fonction de facteurs extérieurs. Ces facteurs étaient notamment le type d'entraînement réalisé (accélération, endurance ou sédentarité) ainsi que les divers paramètres biochimiques, qui ont été encodés dans une matrice Y. Les analyses PCA et OPLS ont été réalisées en utilisant un code Matlab (Mathworks, Natick, MA) de Triba MN (Triba 2015) basé sur la méthode de Trygg et Wold (Trygg et Wold 2002). Les paramètres de la qualité du modèle OPLS ont été évalués par le calcul du R²Y et du Q²Y. Le R²Y représente la variance appliquée de la matrice Y. Le Q²Y, calculé avec la méthode "leave one-out", estime la prédictibilité du modèle. R²Y = 1 indique une description parfaite des données par le modèle, alors que Q²Y = 1 indique une prédictibilité parfaite. Pour la validation interne des modèles OPLS, un test de permutation (999 permutations) a été effectué. Cela a permis d'évaluer si les modèles OPLS obtenus, construits avec les différents groupes, étaient significativement meilleurs que tout autre modèle OPLS obtenu en permutant aléatoirement les données du groupe d'origine (Mahadevan 2008).

Les résultats sont présentés sous forme de "score plot" et de "loading plot". Le score plot représente une projection des différents spectres des échantillons sur les composantes prédictives et orthogonales du modèle. Le loading plot représente la covariance entre la matrice de réponse Y et l'intensité du signal des différents domaines spectrales. Des couleurs ont également été utilisées dans le loading plot en fonction de la valeur R de la corrélation entre l'intensité de chaque bucket et la variable Y. Les métabolites ont été considérés comme des métabolites discriminants lorsqu'ils correspondent aux buckets dont la corrélation R est supérieure ou égale à 0,5.

Figure 18 : Fonctionnement général d'un spectromètre RMN (L'échantillon est placé dans le champ magnétique. Un générateur de radiofréquence irradie l'échantillon avec des pulsations courtes de radiation causant la résonance. Lorsque les noyaux retombent dans leur plus bas état d'énergie, le détecteur mesure l'énergie libérée et un spectre est enregistré).



8. Analyses statistiques

Les données biochimiques et celles liées à la performance ont été notées comme « Moyenne \pm SEM » et le seuil de significativité statistique a été fixé à $p < 0.05$. Pour étudier les effets globaux des différents types d'entraînement, une analyse de variance à un facteur a été utilisée. Dans le cas où des différences significatives étaient observées ($p < 0.05$), des tests post-hoc étaient utilisés : la méthode de Holm-Sidak en cas de données ne suivant pas une loi normale de distribution et le test de Kruskal-Wallis dans le cas contraire. Les comparaisons intergroupes ont été effectuées avec un test de Student pour échantillons non appariés tandis que les comparaisons intragroupes (pré et post-entraînement) ont été effectuées avec un test de Student pour échantillons appariés. Un test non-paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé pour les données ne suivant pas la loi normale de distribution. Concernant les analyses de corrélations, celles-ci étaient réalisées grâce au coefficient de Spearman.

C. Résultats

1. Données anthropométriques

Très peu de différence ont été observées d'un point de vue anthropométrique. En effet, aucune différence entre les groupes n'a été relevée concernant le poids du foie et des muscles Soleus, EDL, Tibialis et Cœur, exprimé en fonction du poids de corps. De plus aucun changement de poids pour les souris contrôles et durances entre le début et la fin de l'entraînement n'a été observé ; néanmoins une légère diminution significative de 2% ($p < 0.05$) a été notée chez les souris du groupe accélération (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Paramètres anatomiques avant et après entraînement pour le poids de corps des souris des différents groupes, et seulement après entraînement pour le poids de muscle. Les moyennes sont données avec les SEM. * $p < 0.05$ versus pré-entraînement.

	Accélération (n=14)	Contrôle (n=11)	Endurance (n=11)
Moyenne du poids de corps pré-entraînement (g)	33,76 ± 0,52	34,96 ± 1,00	32,65 ± 0,68
Moyenne du poids de corps post-entraînement (g)	33,21 ± 0,50 *	34,93 ± 1,08	31,97 ± 0,62
Soleus / Poids de corps (mg/g)	0,36 ± 0,03	0,35 ± 0,04	0,30 ± 0,02
EDL / Poids de corps (mg/g)	0,42 ± 0,02	0,37 ± 0,03	0,36 ± 0,02
Tibialis / Poids de corps (mg/g)	1,40 ± 0,08	1,37 ± 0,07	1,29 ± 0,05
Cœur / Poids de corps (mg/g)	4,95 ± 0,13	5,00 ± 0,20	5,50 ± 0,026
Foie / Poids de corps (mg/g)	52,44 ± 2,42	49,62 ± 3,50	51,01 ± 1,28

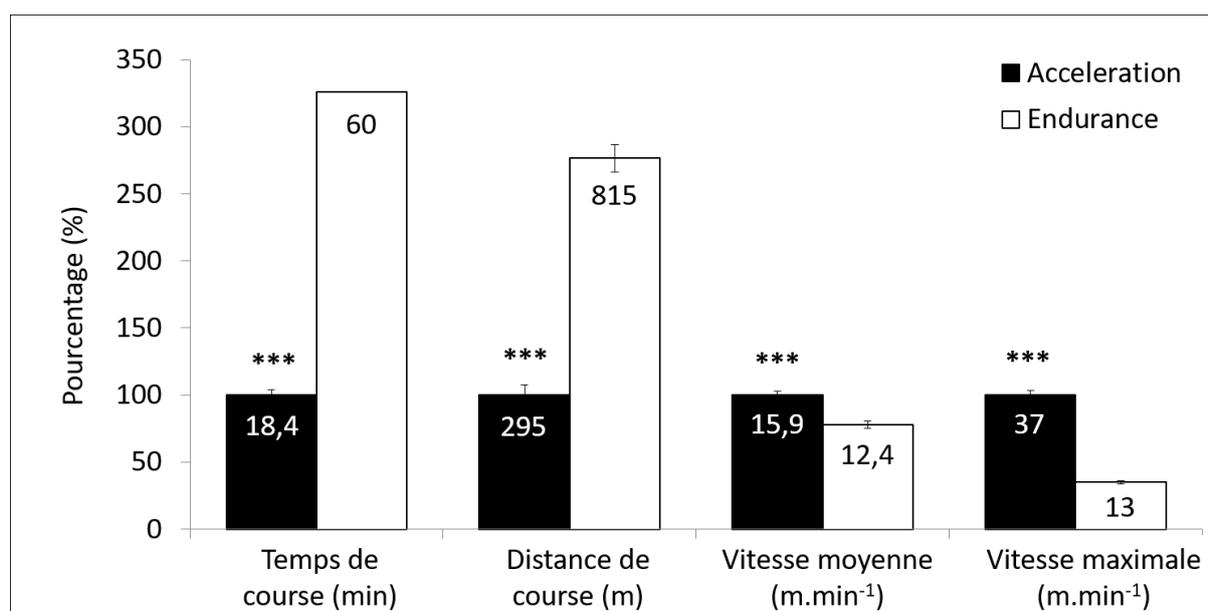
2. Travail réalisé pour les différents entraînements

Après avoir recueilli les données de courses des souris du groupe accélération et endurance, nous avons pu évaluer les différences entre le programme d'entraînement en accélération et celui en endurance concernant : le temps d'exercice, la distance parcourue ainsi que la vitesse moyenne et maximale atteintes lors de ces différents entraînements. Nous avons ainsi pu comparer le travail réalisé par les souris pour une séance lambda (2^{ème} séance d'accélération versus 2^{ème} semaine d'endurance) (**Figure 19**) et pour l'entraînement total, regroupant toutes les séances d'entraînement (**Figure 20**).

Les résultats obtenus pour une unique séance d'entraînement sont (**Figure 19**) :

- 3,3 fois moins de temps de course lors d'une séance en accélération
- 2,8 fois moins de distance à parcourir lors d'une séance en accélération
- une vitesse moyenne de la séance 1,28 plus élevé lors d'une séance en accélération
- une intensité maximale d'exercice 2,8 fois plus élevée pour l'accélération.

Figure 19 : Travail réalisé lors d'une séance d'entraînement en accélération versus une séance d'entraînement en endurance. Valeurs rapportées à 100% pour le groupe accélération. Les valeurs réelles ont été ajoutées dans les histogrammes. Groupe accélération (n=14) et groupe endurance (n=11). *** : p<0.001 versus groupe endurance.

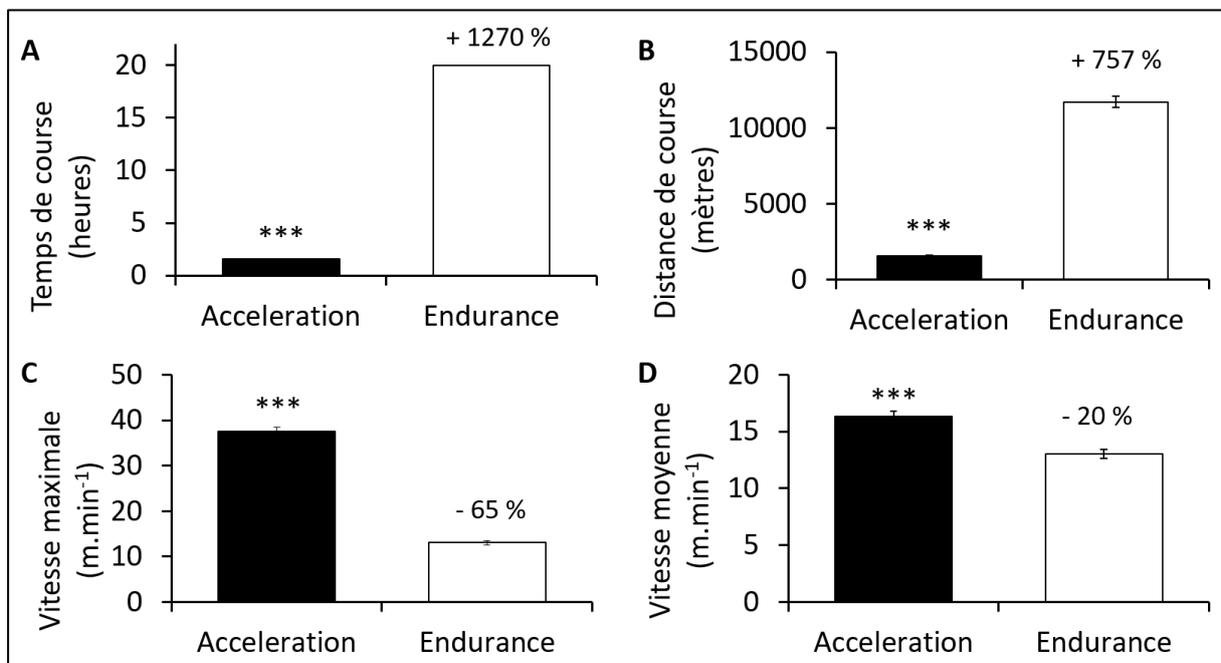


Pour la comparaison de l'entraînement total de chaque groupe d'entraînement nous obtenons

(Figure 20) :

- 12,7 fois moins de temps de course pour l'entraînement en accélération
- 7,6 fois moins de distance à parcourir pour l'entraînement en accélération
- une vitesse moyenne de la séance 1,25 fois plus élevée pour l'entraînement en accélération
- une intensité maximale d'exercice 2,9 fois plus élevée pour l'accélération.

Figure 20 : Travail réalisé pour l'entraînement total d'accélération (5 séances) versus l'entraînement total d'endurance (20 séances). Le pourcentage de différence entre les 2 groupes a été rajouté. Groupe accélération (n=14) et groupe endurance (n=11). *** : $p < 0,001$ versus groupe endurance.

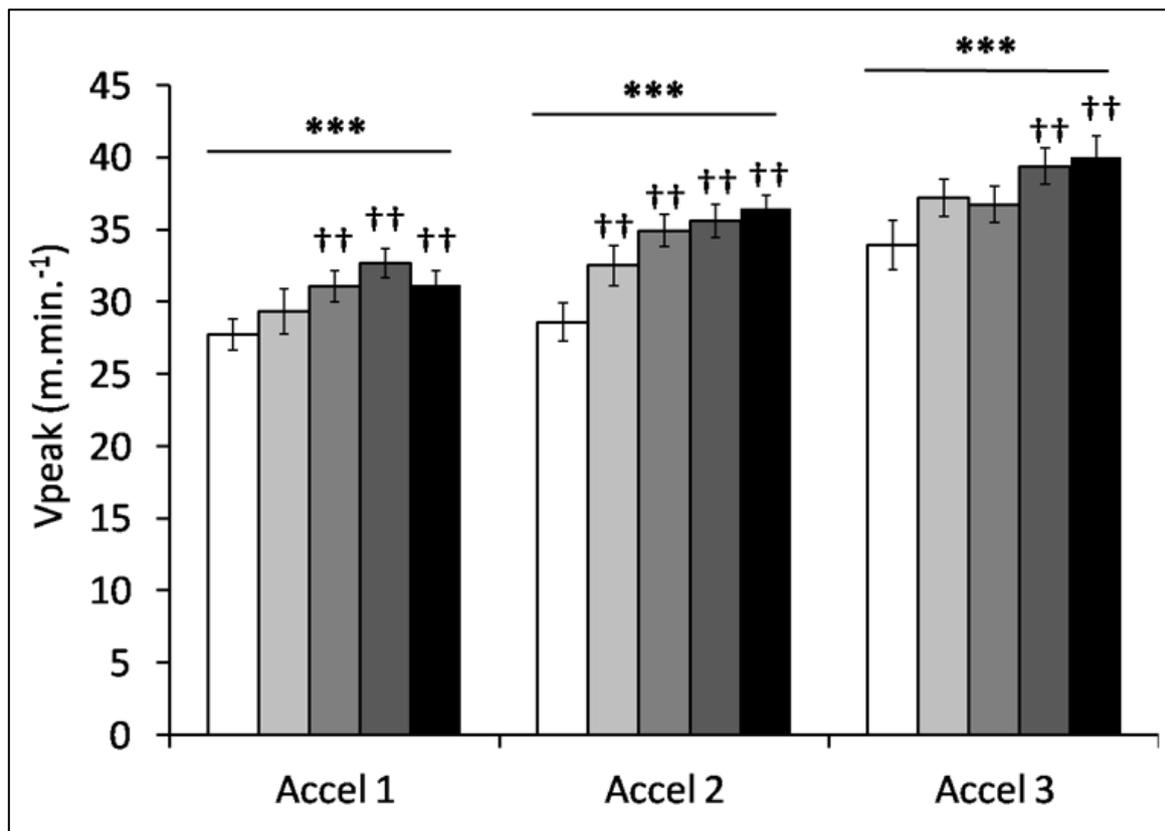


3. Performance et consommation maximale d'oxygène

Les performances et le débit maximal d'oxygène (VO_{2max}) ont été mesurés lors des tests triangulaires pré-entraînement, intermédiaire (pour le groupe endurance) et post-entraînement. Alors que les intensités et volumes d'entraînement étaient fixés pour le groupe endurance, ce n'était pas le cas de l'entraînement en accélération, lors duquel les souris réalisent leurs performances jusqu'à épuisement. Nous avons ainsi pu analyser l'évolution de leur performance (Vitesse maximale atteinte : V_{peak}) séance après séance pour les 3 intensités d'accélérations (Figure 21).

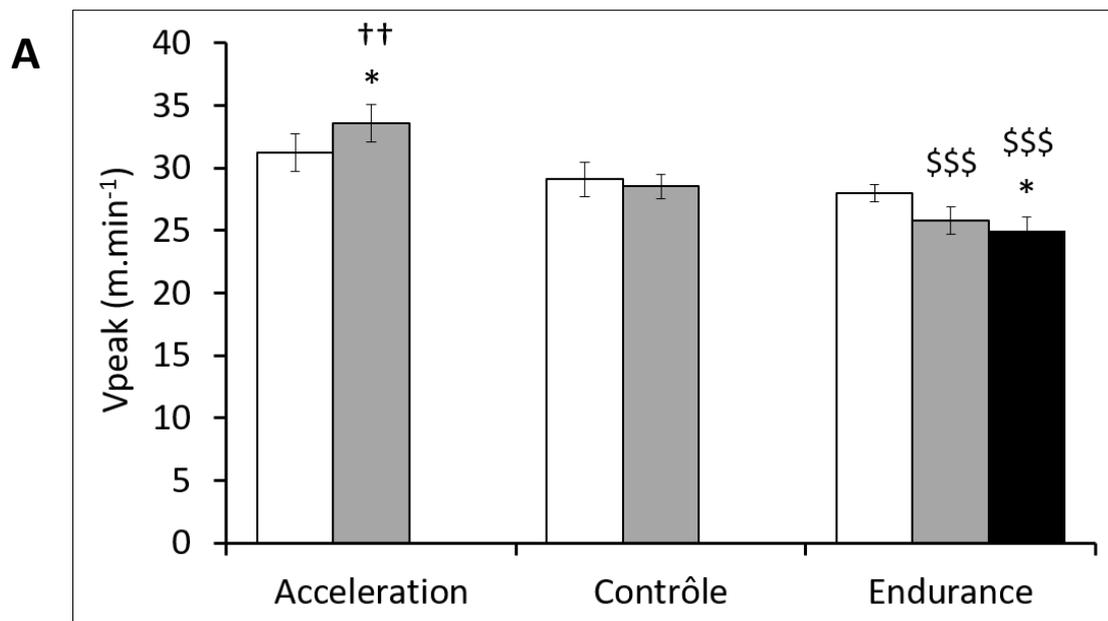
Les résultats nous montrent un effet positif significatif de l'entraînement en accélération sur l'amélioration des performances chez ces souris âgées ($p < 0,001$), et cela pour les 3 intensités d'accélération (Accel 1 : $3\text{m}\cdot\text{min}^{-2}$, Accel 2 : $6\text{m}\cdot\text{min}^{-2}$ et Accel 3 : $12\text{m}\cdot\text{min}^{-2}$). Plus précisément, V_{peak} a significativement augmenté ($p < 0,01$) à partir de la 3^{ème} séance d'entraînement pour l'accélération faible (Accel 1), tandis que la V_{peak} a augmenté dès la 2^{ème} séance d'entraînement ($p < 0,01$) pour l'accélération modérée (Accel 2). Il aura fallu attendre la 4^{ème} séance d'entraînement ($p < 0,01$) en accélération pour améliorer la V_{peak} lors de l'accélération intense (Accel 3). L'amélioration de la vitesse maximale atteinte avant épuisement entre la 1^{ère} séance et la 5^{ème} séance est de 12% pour l'Accel 1, 28% pour l'Accel 2 et 18% pour l'Accel 3, montrant une augmentation des performances plus importante pour l'accélération modérée.

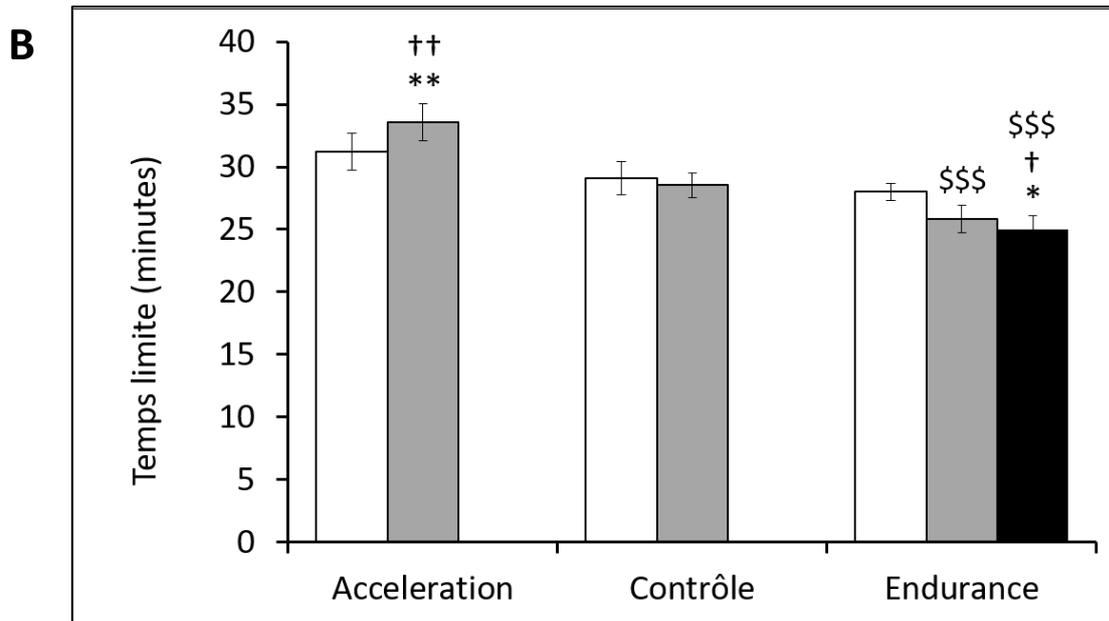
Figure 21 : Vitesse maximale atteinte (V_{peak}) pour les intensités d'accélération faible (Accel 1), modérée (Accel 2) et forte (Accel 3) lors de l'entraînement en accélération chez les souris âgées ($n=14$). Les barres blanches représentent la première séance d'entraînement et les barres noires la dernière. * : $p < 0.001$ effet de l'entraînement (ANOVA). ++ : $p < 0,01$ versus 1^{ère} séance d'entraînement.**



Concernant les tests triangulaires, les performances (V_{peak} et Temps limite) ont été améliorées chez le groupe entraîné en accélération (**Figure 22a et 22b**) entre le pré et le post-test de 8% pour V_{peak} ($p < 0,05$) et de 10% pour le Temps limite ($p < 0,01$), menant à un effet positif de l'entraînement en accélération comparé au groupe contrôle ($p < 0,01$), mais aussi comparé au groupe endurance, que ce soit après 2 semaines ou 3 semaines ($p < 0,001$). Groupe endurance ayant d'ailleurs une diminution de leurs performances ($p < 0,05$) entre le pré-test et le post-test à 4 semaines. Aucun changement n'a été détecté pour le groupe contrôle.

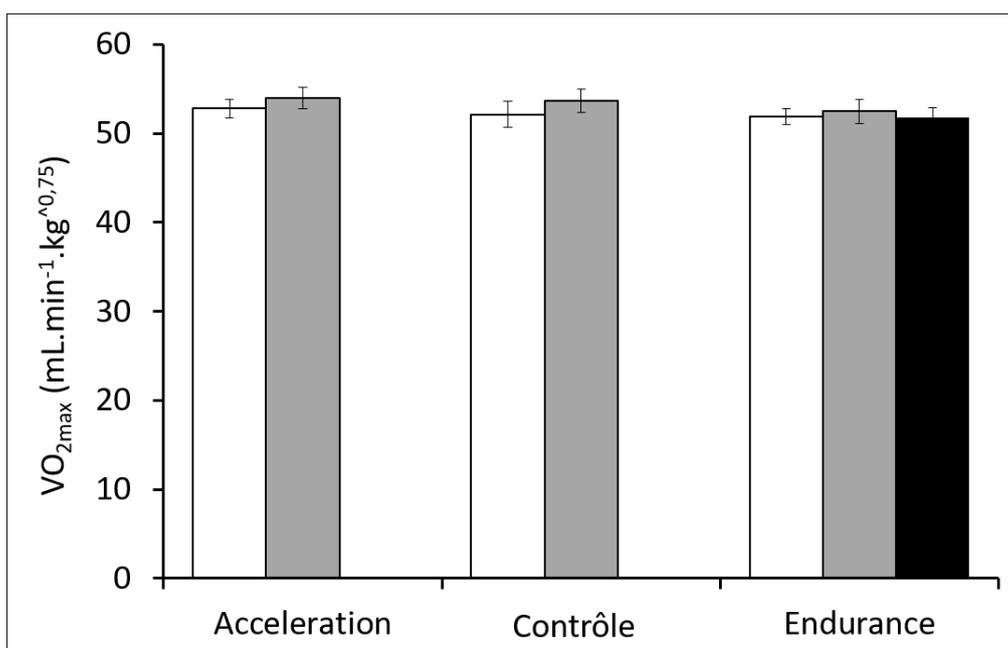
Figure 22 : Evaluation des performances V_{peak} (A) et Temps limite (B) lors des tests triangulaires pré et post-entraînement pour le groupe accélération (n=14), contrôle (n=11) et endurance (n=11). Les barres blanches représentent le test pré-entraînement, les barres grises le test post-entraînement à 2 semaines et les barres noires représentent le test post-entraînement après 4 semaines. * : $p < 0,05$ versus le pré-test. †† : $p < 0,01$ versus le groupe contrôle. \$\$\$: $p < 0,001$ versus le groupe accélération.





Lors de ces tests, le VO_{2max} a été mesuré, mais aucun changement significatif n'a été observé pour aucun des groupes (**Figure 23**).

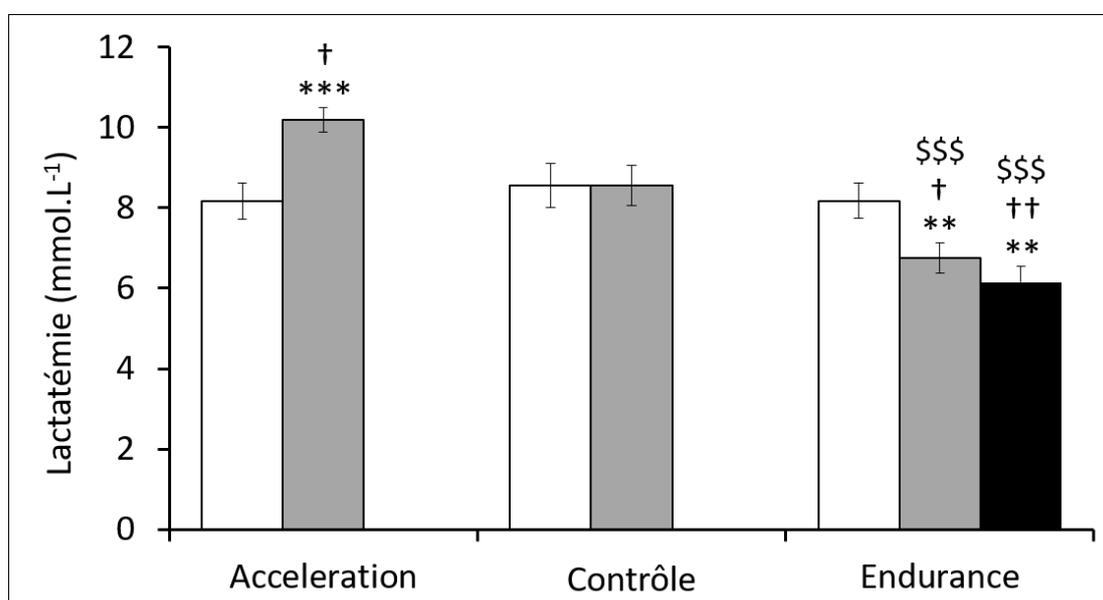
Figure 23 : VO_{2max} mesuré lors des tests triangulaires pré et post-entraînement pour le groupe accélération (n=14), contrôle (n=11) et endurance (n=11). Les barres blanches représentent le test pré-entraînement, les barres grises le test post-entraînement à 2 semaines et les barres noires représentent le test post-entraînement après 4 semaines.



4. Concentration de la lactatémie

Après la fin de chaque test triangulaire (5 minutes après l'arrêt de l'exercice), la lactatémie était mesurée (**Figure 24**). Les résultats obtenus montrent, à l'instar des résultats de performances, une augmentation de la lactatémie pour le groupe entraîné en accélération entre le pré-test et le post-test ($p < 0,001$), étant devenu significativement plus élevé que le groupe contrôle en post-test ($p < 0,05$). De plus, le groupe endurance a montré une diminution significative de la lactatémie entre le pré-test et le post-test dès la deuxième semaine d'entraînement ($p < 0,01$). La lactatémie obtenue 5 minutes après la fin de l'exercice pour le groupe endurance était ainsi moins élevée que pour le groupe contrôle ($p < 0,05$) et le groupe accélération ($p < 0,001$) lors des post-test à 2 semaines et 4 semaines. Aucun changement n'a été détecté pour le groupe contrôle.

Figure 24 : Lactatémie mesurée 5 minutes après les tests triangulaires pré et post-entraînement pour le groupe accélération (n=14), contrôle (n=11) et endurance (n=11). Les barres blanches représentent le test pré-entraînement, les barres grises le test post-entraînement à 2 semaines et les barres noires représentent le test post-entraînement après 4 semaines. ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ versus le pré-test. † $p < 0,05$ †† $p < 0,01$ versus le groupe contrôle. \$\$\$ $p < 0,001$ versus le groupe accélération.



5. Activités enzymatiques

L'activité enzymatique de la citrate synthase (CS) et de la lactate déshydrogénase (LDH) dans le muscle squelettique quadriceps était significativement plus élevée chez le groupe entraîné en accélération comparé au groupe entraîné en endurance (CS : $p < 0,05$; LDH : $p < 0,01$) (**Tableau 4**). De plus l'activité enzymatique de la CS dans le quadriceps était aussi plus élevée chez le groupe

accélération comparé au groupe contrôle ($p < 0,05$). L'activité enzymatique de la créatine kinase (CK) du cœur et du quadriceps était plus élevée dans le groupe accélération comparé au groupe endurance (cœur : $p < 0,01$; quadriceps : $p < 0,001$), ce qui n'était en revanche pas le cas comparé au groupe contrôle (**Tableau 4**). L'activité enzymatique de CK était d'ailleurs plus basse dans le quadriceps du groupe entraîné en endurance comparé au groupe contrôle ($p < 0,05$) (**Tableau 4**). Enfin, l'activité enzymatique de l'adénylate kinase (AK) du cœur était plus élevée chez le groupe accélération comparé au groupe contrôle ($p < 0,01$) (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Effets des différents types d'entraînement sur l'activité enzymatique de la citrate synthase, de la lactate déshydrogénase, de la créatine kinase et de l'adénylate kinase dans le ventricule gauche du cœur et dans le quadriceps. * : $p < 0,05$ versus le pré-test. \$: $p < 0,05$; \$\$: $p < 0,01$; \$\$\$: $p < 0,001$ versus le groupe accélération.

	Cœur (Ventricule gauche)			Quadriceps		
	Accel.	Contrôle	End.	Accel.	Contrôle	End.
	n = 14	n = 11	n = 11	n = 14	n = 11	n = 11
CS (Ui /mg prot)	0,970 ± 0,052	0,918 ± 0,058	0,875 ± 0,038	0,429 (*) (\$) ± 0,066	0,277 ± 0,028	0,235 ± 0,016
LDH (Ui /mg prot)	0,831 ± 0,047	0,774 ± 0,071	0,864 ± 0,044	3,091 (\$\$) ± 0,213	2,771 ± 0,203	2,291 ± 0,126
CK (Ui /mg prot)	3,664 (\$\$) ± 0,252	3,061 ± 0,339	2,785 ± 0,091	14,871 (\$\$\$) ± 0,977	13,197 ± 1,284	9,516 (*) ± 0,407
AK (Ui /mg prot)	1,403 (*) ± 0,116	1,019 ± 0,128	1,340 ± 0,153	1,480 ± 0,106	0,1354 ± 0,120	1,248 ± 0,062

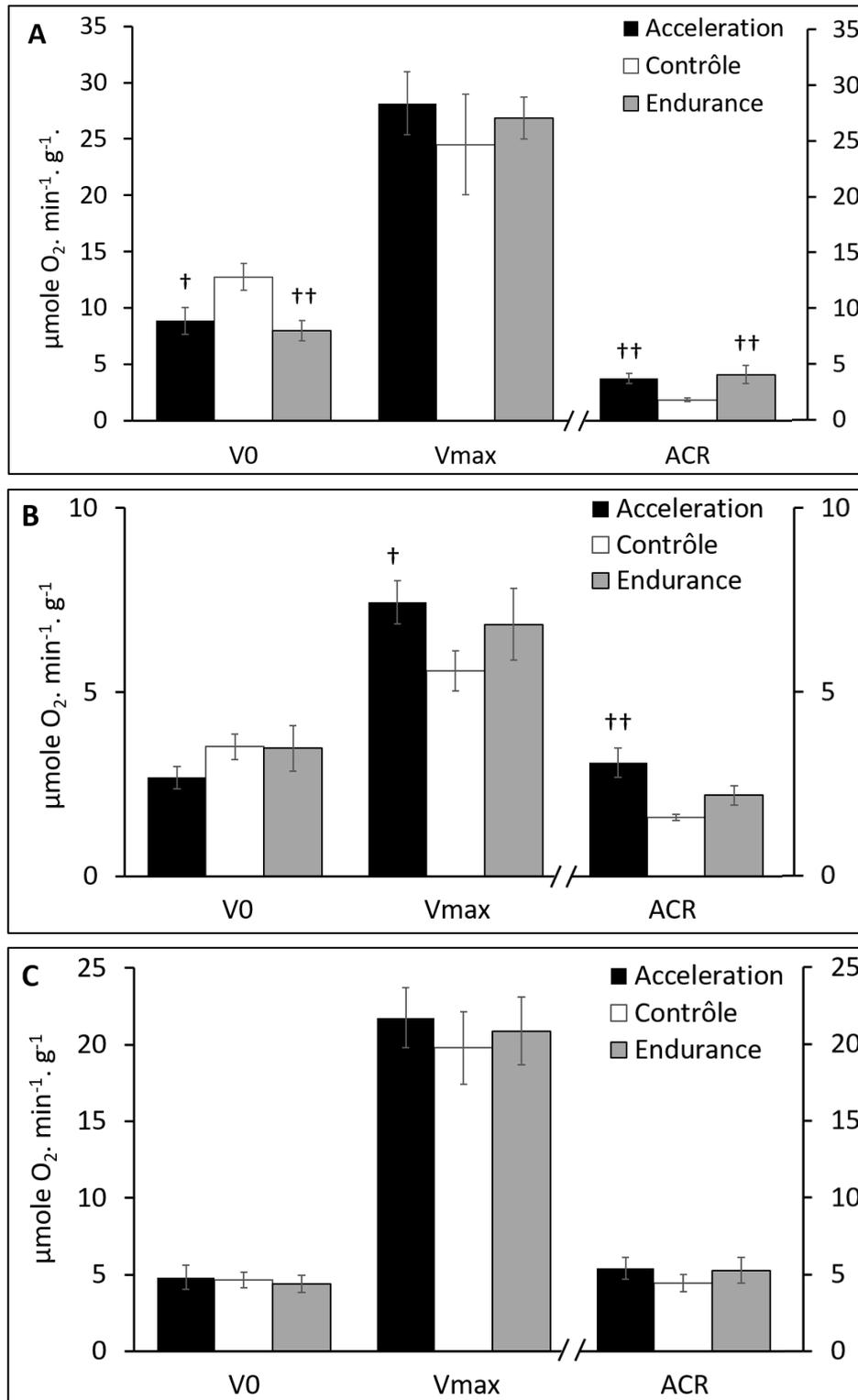
6. Respiration mitochondriale

Aucun effet d'entraînement n'a été détecté pour le taux maximal de respiration mitochondriale (V_{max}) pour le cœur. En revanche, le taux basal de la respiration mitochondriale (sans ajout d'ADP) (V_0) était significativement plus bas chez les groupes entraînés ($p < 0,05$ pour accélération et $p < 0,01$ pour endurance), impactant l'ACR qui était significativement plus haut pour le groupe endurance ($p < 0,01$) et accélération ($p < 0,01$) comparé au groupe contrôle (**Figure 25a**).

Dans le muscle squelettique gastrocnémien, seul l'entraînement en accélération a impacté le taux maximal de la respiration mitochondriale ($p < 0,05$) et l'ACR ($p < 0,01$) qui était plus élevé comparé au groupe contrôle (**Figure 25b**).

Dans les fibres musculaires du soleus, aucune différence significative entre les différents groupes n'a été observée lors des mesures de la respiration mitochondriale (**Figure 25c**).

Figure 25 : Effets des différents entraînements sur la respiration mitochondriale dans le ventricule gauche du cœur (A), le gastrocnémien superficiel (B) et le soleus (C), représentés par le taux de respiration basal (V_0), le taux de respiration maximal (V_{max}) et l'ACR chez les groupes accélération (n=13), contrôle (n=9) et endurance (n=10). † p<0,05 †† p<0,01 versus le groupe contrôle.



7. Analyses métabolomiques

Les analyses PCA des différents échantillons des groupes accélération, contrôle et endurance n'ont pas révélées de valeurs aberrantes ou discriminantes. Ainsi, tous les échantillons d'urines disponibles ont pu être inclus dans l'analyse OPLS.

L'analyse OPLS de la comparaison du groupe accélération et du groupe contrôle (**Figure 26a**) a montré un R²_Y (0,978) et un Q²_Y (0,5) acceptable, indiquant que 97,8% de la variabilité des données est expliqué par ce modèle OPLS et Q²_Y représentant toujours la capacité prédictive de ce modèle, qui a été validé par permutations. Le loading plot obtenu (spectre **Figure 26a**) démontre que les métabolites discriminants entre ces deux groupes (accélération et contrôle) sont les acides aminés branchés (BCAA : à 0,91 et 0,96 ppm), l'hydroxybutyrate (un doublet à 1,16 ppm) et la taurine (triplets à 3,29 et 3,46). Comme le montre le loading plot, le niveau de taurine dans les urines était plus élevé chez le groupe accélération tandis que les BCAAs et l'hydroxybutyrate étaient plus bas que dans le groupe contrôle.

La comparaison entre le groupe endurance et le groupe contrôle (**Figure 26b**) a donné un modèle OPLS avec des valeurs de R²_Y (0,955) et Q²_Y (0,505) encore une fois acceptable et validé par permutations. Le loading plot (**Figure 26b**) a montré que les métabolites les plus discriminants étaient les substrats du cycle de Krebs tels que l'oxoglutarate (triplet à 2,45 et 3,03 ppm), le citrate (2,59 et 2,74 ppm) et le fumarate (6,55 ppm). L'hydroxybutyrate (1,16 ppm) ainsi que plusieurs acides aminés tels que la glutamine et le glutamate (multiplets à 2,06 et 2,38 ppm) et la phénylalanine (multiplets à 7,28 et 7,37 ppm) étaient aussi discriminants. La phénylalanine était le seul métabolite trouvé en plus grande concentration dans les urines du groupe endurance comparé au groupe contrôle, les autres métabolites (substrats du cycle de Krebs, hydroxybutyrate et glutamine-glutamate) étant en concentration plus basse chez le groupe endurance que chez le groupe contrôle.

L'analyse OPLS entre les deux groupes entraînés (accélération et endurance) a donné le modèle le plus prédictible (**Figure 26c**) avec R²_Y = 0,933 et Q²_Y = 0,650. Le loading plot ainsi obtenu a montré que les métabolites les plus discriminants entre ces deux groupes entraînés étaient les BCAAs, les substrats du cycle de Krebs (tels que le succinate (à 2,42 ppm), l'oxoglutarate, le fumarate et le citrate), les glutamine-glutamate, la taurine, l'allantoïne (à 5,40 ppm) et la phénylalanine. La concentration urinaire des substrats du cycle de Krebs, du glutamine-glutamine et de la taurine était plus élevée dans le groupe accélération que dans le groupe endurance. Inversement, le niveau urinaire des BCAAs, de l'allantoïne et de la phénylalanine étaient plus bas chez le groupe accélération que chez le groupe endurance (**Figure 26c**).

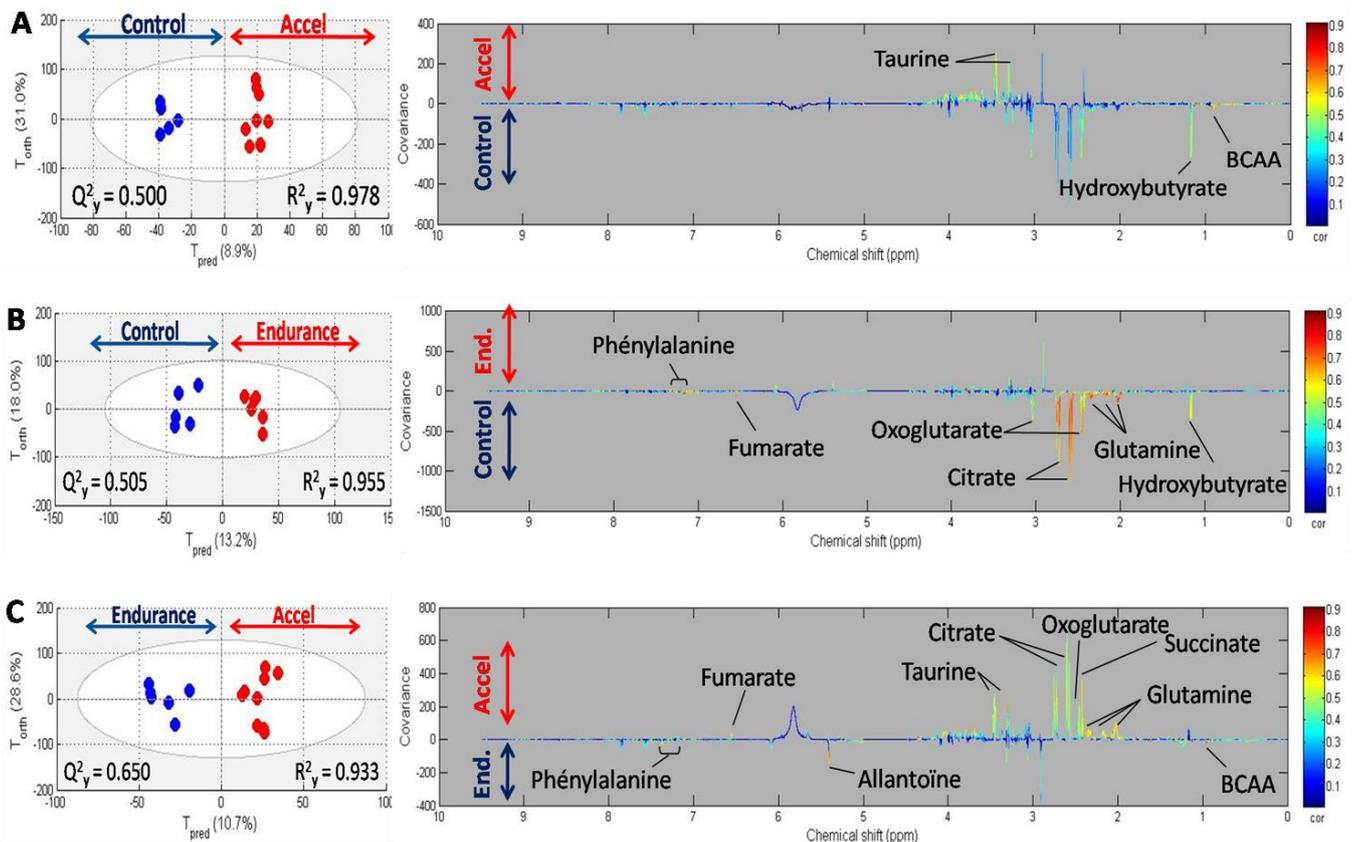
Figure 26 : Score plot (partie de gauche) et loading plot (spectre de droite) des différents modèles OPLS obtenus pour la comparaison des échantillons d'urines des différents groupes.

Figure A : comparaison des groupes contrôle (points bleus, n=5) et accélération (points rouges, n=9).

Figure B : comparaison des groupes contrôle (points bleus, n=5) et endurance (points rouges, n=6).

Figure C : comparaison des groupes endurance (points bleus, n=6) et accélération (points rouges, n=9).

Les variations des différents métabolites sont représentées sur le loading plot sur une échelle de 0 à 9,5 ppm. Un signal positif correspond à un métabolite dont la concentration urinaire est plus élevée pour le groupe représenté par les points rouges tandis qu'un signal négatif correspond à un métabolite dont la concentration urinaire est plus élevée pour le groupe représenté par les points bleus. Chaque score plot est représenté par une valeur de Q^2_y et R^2_y et les métabolites discriminants (corrélation > 0,5) sont indiqués sur le loading plot, l'échelle de couleurs (à droite) correspondant à la corrélation.



D. Discussion

L'objectif de cette première étude était d'évaluer l'effet d'un nouveau protocole d'entraînement à court terme (l'accélération) sur la performance, les adaptations métaboliques possibles dans les muscles squelettiques et le cœur ainsi que sur le profil métabolomique des souris âgées. Le choix de ce programme d'entraînement était basé sur plusieurs hypothèses. Premièrement, ce type d'entraînement stimulerait les trois principaux métabolismes énergétiques (aérobie, anaérobie lactique et alactique). Deuxièmement, la vitesse maximale est atteinte progressivement lors de ce type d'entraînement, contrastant avec l'entraînement en intervalle, et le rendant plus adapté pour les sujets âgés. Troisièmement, le volume et la quantité d'exercice réalisé est beaucoup moins important avec l'entraînement en accélération qu'avec tout autre type d'entraînement (seulement 5 séances).

1. Protocole et performance

L'avantage majeur de ce nouveau protocole d'entraînement basé sur l'accélération est la courte durée d'entraînement qu'il nécessite (5 séances sur 2 semaines avec un temps total d'exercice de 1h36m). De plus, contrairement aux entraînements en intervalle ou en endurance, l'entraînement en accélération ne requiert pas de test régulier pour jauger l'intensité de l'exercice. En effet, la majorité des programmes d'entraînements existants se basent sur un pourcentage de l'intensité maximale (%VO_{2max}, %V_{peak}...) pour réaliser leurs exercices, nécessitant alors des évaluations régulières pouvant être épuisantes chez les sujets âgés. D'autre part, comme il a été dit plus haut, ce type d'entraînement en accélération inclut tout un panel d'intensité d'exercice (d'intensité faible à élevée), stimulant ainsi les diverses voies du métabolisme énergétique, sans toutefois atteindre les hautes intensités d'exercice trop brutalement.

Les résultats de performances indiquent un effet bénéfique de l'entraînement en accélération chez les souris âgées, celui-ci améliorant la vitesse maximale atteinte et le Temps limite en seulement 5 séances pour les tests triangulaires et en seulement 3 séances au sein même de l'entraînement. Ce n'est en revanche pas le cas pour l'entraînement en endurance, montrant même une diminution de la performance à la 4^{ème} semaine d'entraînement. Cette diminution pourrait s'expliquer par une accoutumance aux basses intensités de course chez les souris entraînées en endurance, ce qui, en plus de leur âge avancé, pourrait influencer négativement sur leur performance à des hautes intensités. L'importance de l'atteinte de haute intensité lors de l'entraînement dans l'amélioration des performances et du VO_{2max} n'est d'ailleurs plus à démontrer (Swain 2005, Hafstad 2011, Helgerud 2007, McInnis et Gibala 2016).

Concernant le VO_{2max} , la durée des entraînements (seulement 2 semaines pour l'accélération et 4 semaines pour l'endurance) pourrait expliquer les résultats non significatifs, comme il l'a récemment été observé après seulement 2 semaines d'entraînement en intervalle (Vincent 2015). De futures études avec un protocole d'entraînement en accélération sur plus long terme seraient donc nécessaires pour clarifier l'effet de ce type d'entraînement sur le VO_{2max} (**article 3** : Launay 2017).

2. Métabolisme anaérobie

Le groupe entraîné en accélération a montré une augmentation de sa lactatémie lors du post-test, tandis que le groupe entraîné en endurance a, au contraire, montré une baisse de la lactatémie post-entraînement. Bien que ces résultats coïncident avec ceux de la performance, et que la lactatémie, reflétant indirectement l'acidose musculaire, peut être considérée comme un facteur limitant de l'exercice, aucune corrélation entre les performances et la lactatémie atteinte post-exercice n'a été trouvée. Néanmoins, le plus haut taux de lactate dans le groupe accélération suggère que ces souris ont une meilleure résistance à l'acidose musculaire comparée aux valeurs pré-entraînement mais aussi aux deux autres groupes (contrôle et endurance). En effet, les hautes intensités d'exercices atteintes lors de l'entraînement en accélération augmentent la contribution du métabolisme anaérobie pour la fourniture énergétique lors de l'entraînement. Ainsi, les souris du groupe accélération pourraient avoir été habituées à des plus haut taux de lactate sanguin, suggérant une meilleure tolérance à l'acidose pour ce groupe, contrairement au groupe endurance étant habitué aux intensités faibles à modérées d'exercice.

En outre, l'activité enzymatique de la LDH était plus élevée dans le muscle squelettique du groupe accélération comparé au groupe endurance, allant dans le sens d'une utilisation plus importante du métabolisme anaérobie dans le groupe accélération, permettant ainsi l'atteinte et le maintien d'intensité plus élevée d'exercice (Kaczor 2006, Gelfi 2006). Des études ont par ailleurs montré une diminution de l'activité de LDH, notamment son isoforme musculaire (LDH-M), après un entraînement en endurance (Spina 1996, Messonnier 2005, Bigard 2007) pouvant alors expliquer ces différences observées entre le groupe accélération et le groupe endurance. De plus, comme il a été dit dans les chapitres précédents, l'activité de la LDH-H diminue avec l'âge. Une augmentation de l'activité de cette enzyme grâce à l'entraînement en accélération pourrait alors être un facteur bénéfique pour compenser le déclin du métabolisme anaérobie avec l'âge. Néanmoins des précisions supplémentaires concernant l'évolution des différents isoformes de LDH seraient nécessaires.

D'autre part, la revue récente de Tepp et al. (2016) a mis l'accent sur la nécessité d'étudier les altérations de la cinétique des flux énergétiques au cours du vieillissement. Le rôle de ces changements a été jusqu'à maintenant trop sous-estimé dans le déclin des performances avec l'âge. Dans notre étude, l'activité enzymatique de l'adénylate kinase (AK) au niveau du cœur était plus élevée dans le groupe accélération comparé au groupe contrôle. Nous avons précédemment expliqué le rôle de AK dans les voies de transfert énergétique, son augmentation dans le groupe accélération pourrait ainsi être une source additionnelle d'énergie lors d'exercice intense (Dzeja 1996, Dzeja 2003, Hunter 2004), dans le cœur des souris âgées. Concernant l'activité enzymatique de la créatine kinase (CK), celle-ci était plus élevée dans le muscle squelettique (quadriceps) et dans le cœur du groupe accélération comparé au groupe endurance, allant encore une fois dans le sens d'un meilleur flux énergétique chez les souris entraînées en accélération, leur permettant ainsi d'atteindre et de maintenir des intensités d'exercices élevées (Tepp 2016).

Ces résultats sont en accord avec de nombreux articles suggérant qu'un entraînement utilisant des hautes intensités était plus efficient qu'un entraînement en endurance sur les capacités anaérobies (Tabata 1996, Rodas 2000, Perry 2008, Reaburn 2009, Hafstad 2011). L'entraînement en accélération aurait donc un impact plus important que l'entraînement en endurance sur les voies énergétiques anaérobies et permettrait *in fine*, grâce à une meilleure résistance à l'acidose et à un meilleur flux énergétique, de meilleures performances notamment en termes d'intensité, chez les souris âgées.

3. Métabolisme aérobie

En dépit de l'absence de résultats significatifs pour le VO_{2max} , la respiration mitochondriale et l'activité enzymatique de la citrate synthase (CS) ont été impactées par l'entraînement en accélération. En effet, l'activité enzymatique de la CS dans le muscle squelettique du quadriceps était plus élevée chez le groupe accélération comparativement au deux autres groupes (endurance et contrôle), ce qui est en accord avec de nombreuses études montrant un effet bénéfique de l'activité physique sur l'activité enzymatique de la CS à tout âge (Rossiter 2005, Safdar 2011, Malek 2013). Cette augmentation de l'activité de la CS est communément relatée à une augmentation du contenu en mitochondrie et à une adaptation du métabolisme aérobie (Spina 1996, Figueredo 2009ab, Larsen 2012).

De plus, la capacité maximale de la respiration mitochondriale (V_{max}) (en présence d'ADP) était supérieure dans le muscle squelettique gastrocnémien des souris entraînées en accélération comparées aux souris contrôles, complétant les résultats de l'activité enzymatique de la CS.

Contrairement à nos attentes, l'entraînement en endurance n'a pas eu les effets escomptés sur la capacité maximale de la respiration mitochondriale (V_{max}) ni sur l'activité enzymatique de la CS, normalement impacté par l'entraînement en endurance (cf. chapitres précédents).

Ces adaptations observées dans le groupe accélération sur le muscle squelettique ne sont pas visibles dans le muscle cardiaque. Ce manque d'adaptation cardiaque chez les groupes entraînés en accélération et en endurance pourrait être dû au temps d'entraînement court (2 et 4 semaines) ou au fait que la capacité oxydative était suffisante pour répondre au stimulus de l'entraînement au niveau du cœur. Il a d'ailleurs déjà été reporté que l'activité de la CS augmentait dans le muscle squelettique à la suite d'entraînements en endurance ou en intervalle de haute intensité, mais pas dans le cœur, suggérant une réponse plus lente à l'entraînement pour le muscle cardiaque (Baldwin 1977, Siu 2003).

Rappelons que l'activité enzymatique de la CS diminue avec l'âge et que le dysfonctionnement mitochondrial est au cœur des théories sur le vieillissement et impacterait grandement les performances des sujets âgés (cf. Chapitres précédents). Nos résultats suggèrent que l'entraînement en accélération résulte de meilleures adaptations du métabolisme aérobie comparé à l'entraînement en endurance, principalement au niveau des muscles squelettiques, en améliorant le taux maximal de respiration mitochondriale et en augmentant la densité mitochondriale chez les souris âgées, pouvant ainsi compenser leur déclin.

4. ROS et capacité antioxydante

Bien que peu de résultats aient été observés sur la capacité maximale de respiration mitochondriale, l'ACR (V_{max}/V_0) au niveau du cœur était plus élevé chez les groupes entraînés (endurance et accélération) comparé au groupe contrôle. De même, l'ACR au niveau du gastrocnémien était plus élevé pour le groupe accélération comparé au groupe contrôle. Cette différence d'ACR est notamment due à une diminution du V_0 au niveau cœur pour les deux groupes entraînés et au niveau du muscle squelettique pour le groupe accélération. D'autres cas d'études ont effectivement reporté une augmentation de l'ACR post-entraînement chez les animaux jeunes et âgés (Bo 2008, Figueiredo 2009, Pesta 2011), pouvant être amélioré par une augmentation de la capacité maximale de la respiration mitochondriale, mais aussi par un abaissement du taux basal de respiration (sans ajout d'ADP) (Pesta 2011). En effet, en absence d'ADP, la synthèse d'ATP par la chaîne respiratoire ne se réalise pas, cependant, une consommation d'oxygène est tout de même observée, bien que normalement très faible. Cette consommation d'oxygène sans production d'énergie signifie que le couplage entre l'oxydation des coenzymes (lors de la respiration mitochondriale) et la synthèse d'ATP

n'est pas parfait. La diminution de ce taux basal (V_0) indiquerait un meilleur couplage de la respiration mitochondriale chez les souris entraînées, et pourrait être notamment expliqué par une fuite de proton (Stuart 2001, Pesta 2011) et par un dysfonctionnement des protéines de la chaîne respiratoire causé par les radicaux libres (Bo 2008, Wei 2009). En effet, nous avons précédemment montré que le déclin des fonctions mitochondriales avec l'âge était principalement impacté par les dommages oxydatifs dus à la production des ROS (Shigenaga 1994, Gianni 2004, Figueredo 2009ab), ceux-ci induisant notamment une diminution du fonctionnement de la chaîne respiratoire (Gianni 2004, Zhang 2007, Wei 2009). Nos résultats suggèrent donc que 5 séances d'entraînement en accélération ou 20 séances d'entraînement en endurance chez les souris âgées seraient capables d'améliorer le couplage de la respiration mitochondriale en réduisant la production de ROS ou en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes dans le cœur (et dans le muscle squelettique pour le groupe accélération).

De plus, nos analyses métabolomiques ont révélé une concentration en taurine plus élevée dans les urines du groupe accélération, suggérant une production et une disponibilité plus importante en taurine pour les souris entraînées en accélération. La taurine est connue pour ses propriétés antioxydantes et sa capacité à réduire le niveau des radicaux libres (Roy 2012, Shimada 2015). Il a aussi été montré que les souris manquant de taurine et de ses transporteurs avaient des performances physiques plus faibles, allant dans le sens des résultats observés dans cette étude. Il semblerait donc que l'entraînement en accélération soit probablement plus bénéfique que l'endurance dans l'augmentation des défenses oxydantes chez les souris âgées, bien que le groupe endurance montre tout de même des effets bénéfiques sur l'ACR au niveau du cœur. Cependant, il est évident que des études complémentaires sont nécessaires pour mesurer l'effet de l'entraînement en accélération sur la production de ROS et les défenses antioxydantes.

5. Complément des analyses métabolomiques

De nombreuses études ont montré que la progression de la sarcopénie était associée à des altérations du métabolisme protéique musculaire au cours du vieillissement (Holloszy 1991, Schulte 2001, Nair 2005, Butler-Browne et Bigard 2006, Brooks 2016). Le métabolisme protéique est caractérisé par un équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines. Les analyses RMN ont montré une plus faible concentration en acides aminés branchés (BCAAs) dans les urines du groupe accélération comparé au groupe endurance et contrôle, suggérant un catabolisme protéique moins important chez le groupe accélération (Lemoyec 2012). De plus, les produits de dégradation protéique (telles que la phénylalanine et l'allantoïne) n'étaient pas plus élevés chez le groupe accélération comparé aux deux autres groupes. Ces observations pourraient ainsi suggérer un début de synthèse

protéique (par l'utilisation des BCAAs) chez les souris entraînées en accélération, ou du moins un meilleur maintien du turnover protéique. Cette synthèse protéique n'a néanmoins pas été observée en termes d'augmentation de masse musculaire, le protocole de cette étude relativement courte étant une raison possible.

Ces analyses métabolomiques ont aussi révélé une concentration plus faible d'hydroxybutyrate chez les deux groupes entraînés. L'hydroxybutyrate est un corps cétonique, l'excès de ces derniers dans les urines est souvent associé à un jeûne, lors d'un épuisement de réserve glucidique et pourrait être un signe de diabète (cf. chapitre cétonogénèse) (Cox 2014). Ce qui rejoindrait les nombreuses études montrant les effets bénéfiques de l'activité physique sur l'insulino-résistance (Ryan 2000, Flack 2011, Medeiros 2011, Sundell 2011, O'Neill 2013). Néanmoins, le manque de données de notre étude sur ce sujet ne nous permet pas de conclure.

Enfin, une plus faible concentration des substrats du cycle de Krebs (Oxoglutarate, Citrate, Succinate) ou de ses intermédiaires (Glutamine-Glutamate) a été détectée dans les urines du groupe endurance comparé aux deux autres groupes. Ces observations pourraient être dues à une utilisation plus importante (et donc à une élimination moins importante) de ces substrats, ce qui serait en adéquation avec ce type d'entraînement utilisant principalement la voie aérobie. Cela stimulerait ainsi la dégradation protéique, les BCAAs pouvant fournir les substrats du cycle de Krebs par l'oxydation du glutamate en oxoglutarate (Lemoyec 2012), rejoignant nos suppositions concernant la différence du turnover protéique chez ces deux groupes entraînés.

E. Conclusion et perspectives de la première étude

En conclusion, cette première étude a démontré que l'entraînement basé sur l'accélération permettait l'amélioration des performances chez les souris âgées tout en étant plus efficient que l'entraînement en endurance. De plus, il semblerait que ce type d'entraînement en accélération mène à de meilleures adaptations du métabolisme anaérobie, grâce notamment à l'intensité plus élevée d'exercice, mais aussi du métabolisme aérobie. Bien que des études complémentaires soient nécessaires, cet entraînement aurait un possible impact positif sur l'amélioration des défenses antioxydantes, la sensibilité à l'insuline et le turnover protéique des souris âgées. L'entraînement en endurance à basse intensité ne semble pas capable de développer le métabolisme anaérobie, lequel est essentiel pour la qualité de vie des personnes âgées, tandis que les protocoles d'entraînements de hautes intensités actuellement utilisés, et atteignant les hautes vitesses très brusquement, ne nous semblent pas appropriés pour les sujets âgés. L'entraînement en accélération semble donc être un bon

compromis. De plus, étant donné le besoin de promouvoir l'exercice chez les personnes âgées, un programme d'entraînement à court terme, tel que l'accélération, permettrait d'augmenter leur motivation.

Néanmoins, bien que cette étude ait montré l'efficacité de ce nouveau type d'entraînement en accélération sur de nombreux paramètres (performances, métabolismes énergétiques...) chez la souris âgée, des études complémentaires sont requises afin de déterminer les effets sur le cœur et les muscles squelettiques sur un plus long terme. En effet, si l'objectif de cette étude était de développer un programme d'entraînement à court terme, les 2 semaines d'entraînement restent tout de même relativement courtes pour détecter les effets sur le VO_{2max} et la prise de masse musculaire. De plus, devant l'importance des flux énergétiques à l'exercice et pendant la récupération, des études supplémentaires sur ces voies de transfert d'énergie seraient intéressantes (AK, et CK notamment), nécessitant ainsi des études *in vivo* plutôt que *in situ* (fibres perméabilisées), les communications existantes entre les différents métabolismes étant à prendre indéniablement en compte. Enfin, les ROS étant toujours au cœur des théories sur le vieillissement, l'étude de leur production et de l'activité des enzymes antioxydantes lors de l'entraînement en accélération serait d'un grand intérêt.

A l'heure où ces lignes sont écrites, un deuxième article sur l'entraînement en accélération de notre laboratoire vient d'être accepté et apporte certains éléments de réponse (Launay 2017) (**Article 3**). En effet, cet article a étudié l'effet de notre entraînement en accélération sur des rats âgés de 22 mois et sur une période de 8 semaines (à raison de 2 séances par semaine). Les résultats ont montré une amélioration des performances mais aussi du VO_{2max} . De plus une hypertrophie cardiaque a été observée et un gain de force et de masse musculaire semble être mis en place, notamment par une activation de la voie de signalisation de mTOR. Ces résultats complètent nos observations et apportent des nouveaux éléments quant à l'utilité et l'efficacité de ce nouveau protocole d'entraînement qu'est l'accélération.

DEUXIEME ETUDE

II. EVOLUTION DES CAPACITES PHYSIQUES ET PHYSIOLOGIQUES AVEC L'AGE CHEZ LA SOURIS miCK-KO

A. Contexte

Bien que l'espérance de vie ne cesse d'augmenter depuis des décennies, une perte fonctionnelle se produit au cours du vieillissement, diminuant les capacités à réaliser les activités ou gestes quotidiens (Hunter 2004, Butler-Browne et Bigard 2006). La perte de masse et de force musculaire, ainsi que les altérations des différents métabolismes énergétiques s'orientant vers un métabolisme plus lent (oxydatif) sont des facteurs importants dans la diminution des capacités physiques, principalement pour des intensités d'exercices/activités modérées à intenses (Gelfi 2006, Kaczor 2006, Mitchell 2012, Brooks 2016).

Le vieillissement est universel et inéluctable, son processus est intrinsèque mais est aussi influencé par les facteurs environnementaux. A ce jour, aucun consensus n'établit les causes exactes du vieillissement, mais de nombreuses théories coexistent. Les théories du vieillissement biologique sont nombreuses et on distingue notamment les théories programmées des théories stochastiques (ainsi que des théories mixtes). Si les théories programmées partent du principe que chaque espèce possède une « horloge biologique » génétiquement préprogrammée, les théories stochastiques, elles, invoquent des accumulations de phénomènes aléatoires comme des mutations de gènes, des dommages oxydatifs, etc... (Jaeger et Cherin 2011, Tepp 2016).

La mitochondrie est actuellement au cœur des théories sur le vieillissement de par ses nombreux dysfonctionnements observés avec l'âge (Short 2005, Figueiredo 2009, Huang et Hood 2009, Hepple 2014) et causées entre autres par une surproduction de ROS au niveau des différents complexes de la chaîne respiratoire (Mansouri 2006, Huang et Hood 2009, Brand 2010, Peterson 2012, Correia-Melo 2016). Néanmoins, ces théories sont encore aujourd'hui fortement débattues (Tepp 2016). Les tissus analysés, les méthodes de mesures (*in vitro*, *in vivo*), l'activité physique des sujets ou encore leur état de santé (diabète, maladies cardio-vasculaires...), sont autant de facteurs responsables des contradictions existantes. Pour exemple, les études *in vitro*, sur mitochondries isolées ne prennent pas en compte l'influence des différents mécanismes de flux énergétiques. De plus, il se pourrait que le rôle et l'impact des ROS dans la théorie sur le vieillissement mitochondrial soit surestimé (Tepp 2016).

Récemment, une théorie portant sur l'altération des flux énergétiques a été proposée (Tepp 2016) et un grand intérêt a été porté à ces transferts énergétiques existants entre les différents lieux de formation et d'utilisation de l'ATP, ceux-ci impactant grandement la fourniture énergétique et donc les capacités physiques, que ce soit pour les activités intenses ou lors de la récupération (Wallimann

2015, Miotto et Holloway 2016, Tepp 2016). En effet, parmi les mécanismes contribuant à l'homéostasie métabolique, les voies de transfert d'énergie ont une place de premier ordre permettant une flexibilité pour réagir aux différents besoins énergétiques (Tepp 2016) (schéma synthèse, **Figure 8**). La navette phosphocréatine/créatine (PCr)/Cr est notamment considérée comme un contributeur majeur du transfert énergétique en régénérant la PCr et en augmentant la disponibilité en ADP pour la respiration mitochondriale (Ydfords 2015, Miotto et Holloway 2016, Tepp 2016). Il a d'ailleurs été montré que dans les cellules cardiaques le flux de phosphocréatine assurait le transport de 80% de l'énergie nécessaire à la contraction musculaire et aux pompes ioniques (Aliev 2011). Les 20% restants de l'énergie étant transportés grâce au système adénylate kinase (AK) et à la voie glycolytique (Aliev 2011). De plus, la diffusion de la PCr et de la Cr est estimée être 2000 fois plus rapide que celle de l'ADP et de l'ATP à travers la membrane externe mitochondriale et le cytosol (Wallimann 2011), permettant un transfert d'énergie plus efficient, notamment pour les activités physiques intenses. Suivant le type de fibres musculaires considérées et suivant l'intensité de l'exercice demandé, différents mécanismes se mettent en place. Ainsi, lorsque l'intensité d'exercice est très élevée, les fibres glycolytiques assurent majoritairement la fourniture en énergie en utilisant leur stock de PCr disponible (Ventura-clapier 1998, Kaasik 2003, Gueguen 2006). Cependant, cette intensité ne pourra pas être maintenue très longtemps et l'utilisation des stocks conduira alors à une diminution de l'intensité d'exercice (Ventura-clapier 1998, Kaasik 2003, Gueguen 2006). En diminuant l'intensité, la navette PCr/Cr permet ainsi de reformer les stocks de PCr au niveau des myofibrilles, assurant, grâce à la mitochondrie, un flux énergétique constant. Cette navette créant un lien étroit entre la mitochondrie et les myofibrilles se réalise donc majoritairement dans les fibres de type oxydatives (possédant un plus grand nombre de mitochondries) et s'effectue en période de récupération mais aussi pendant l'exercice pour les fibres oxydatives, sans nécessiter un arrêt de l'activité (Kaasik 2003). Si l'utilisation de la PCr au niveau myofibrillaire est assurée par l'enzyme de la créatine kinase musculaire (MM-CK), cette navette PCr/Cr est effective grâce à l'enzyme mitochondriale de la créatine kinase (mi-CK) (**Figure 8**).

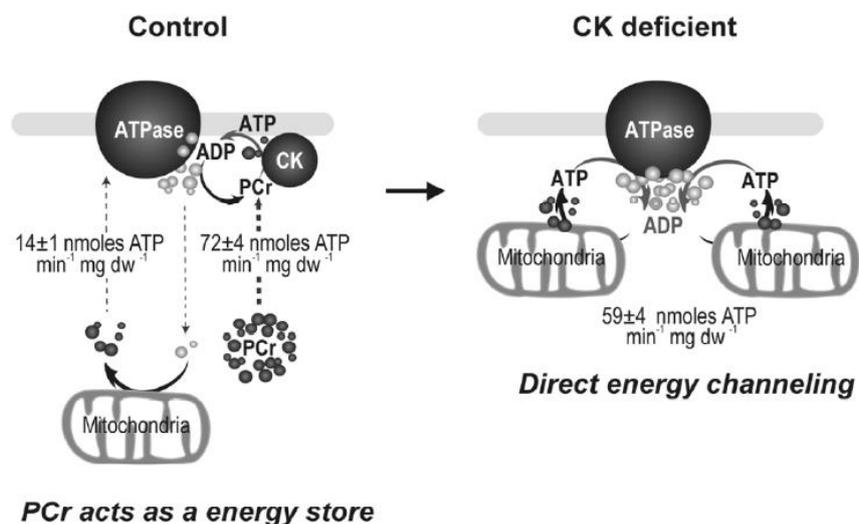
Concernant l'impact de l'âge sur ces voies de transfert d'énergie, il a notamment été montré une diminution de l'expression génique et de l'activité enzymatique des isoformes mitochondriaux (mi-CK) et cytosoliques (MM-CK) de la créatine kinase au cours du vieillissement, que ce soit au niveau des muscles squelettiques et cardiaques chez l'homme et le rongeur (Schuyler 1990, Kayo 2009, Bodyak 2002, Kaczor 2006, O'Connel 2007, Nuss 2009, Nemutlu 2015, Tepp 2016). Cette dégradation de fonction de l'activité de la CK, pouvant être causée par le stress oxydant (Kanski 2005, Nuss 2009), serait un des facteurs majeurs de la perte de fonction musculaire avec l'âge (Pastoris 2000, Nuss 2009) et de la baisse des capacités anaérobies (Kaczor 2006). Comme le soulève Tepp et al. (2016), il existe

de nombreuses indications d'un déclin de la formation d'ATP et du transfert d'énergie avec l'âge, mais des études supplémentaires sont encore nécessaires (Tepp 2016).

Dépendamment de l'importance de ces voies de transfert d'énergie dans les différents métabolismes, un modèle de souris déficientes à la CK a alors été développé, souris pouvant être knock-out pour les différents isoformes (KO-mi-CK, KO-MM-CK) que nous nommerons respectivement miCK et MMCK. Cette mutagenèse ciblée a permis d'étudier les rôles de ces différents isoformes et est actuellement utilisée pour simuler une diminution du flux énergétique pouvant apparaître avec l'âge afin d'analyser les adaptations possibles.

Actuellement, aucune étude concernant l'évolution de la capacité physique de ces souris avec l'âge n'a été réalisée. Néanmoins, certaines adaptations cellulaires et métaboliques sont observées chez ces souris. En effet, les souris déficientes pour les deux isoformes de CK (mitochondrial et cytosolique) que nous nommerons Double-KO montrent une importante plasticité architecturale (Kaasik 2003, Novotova 2006, Wallimann 2015). Les principales observations montrent, dans les fibres musculaires de type rapide, une augmentation du nombre et du volume mitochondrial (Kaasik 2003, Momken 2005, Novotova 2006, Vaarman 2008, Wallimann 2015) ainsi qu'un rapprochement de ces mitochondries vers les sites d'utilisation de l'ATP (Kaasik 2003, Novotova 2006). Cela permettrait ainsi une transition d'un flux énergétique utilisant normalement les navettes PCr/Cr vers un transfert d'énergie direct, entre la mitochondrie et les myofibrilles, la distance de diffusion ayant été diminuée (Novotova 2006, Wallimann 2015). Le schéma de Kaasik et al. exprime parfaitement ces adaptations observées (**Figure 27**) :

Figure 27 : Adaptation du flux énergétique dans le muscle squelettique à contraction rapide chez les souris déficientes à la créatine kinase cytosolique et mitochondriale (Double-KO) (Kaasik 2003). Les chiffres en $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg dw}^{-1}$ représentent la quantité d'ATP produit.



Une meilleure capacité oxydative a d'ailleurs été observée dans les muscles glycolytiques des souris Double-KO (Veld 2005, Novotová 2006), suggérant une transition du métabolisme glycolytique vers un métabolisme oxydatif pour les fibres musculaires rapides (Veld 2005, Vaarman 2008). L'orientation vers un métabolisme plus oxydatif engendrerait une résistance plus accrue à la fatigue chez les souris Double-KO (Novotová 2006, Vaarman 2008).

Néanmoins, une détérioration du transport du calcium (pompe SERCA), est observée chez les souris Double-KO, augmentant le temps de captage et de relargage du calcium par le réticulum sarcoplasmique (Kaasik 2003, Novotová 2006, Vaarman 2008). A cela s'ajoute une sensibilité réduite à l'ADP, indiquant qu'un taux d'ADP plus élevé est nécessaire pour stimuler les différents métabolismes énergétiques dépendant du ratio ATP/ADP. De même la concentration de PCr et le taux de phosphotransfert semble être inférieur chez ces souris Double-KO (Veld 2005, Novotová 2006, Yaniv 2013). Il en résulte une diminution de la force explosive (burst) et de la force maximale (Kaasik 2003, Novotová 2006, Vaarman 2008).

Des résultats similaires, bien qu'étant moins prononcés, ont été observés chez les souris déficientes uniquement à la CK cytosolique (MM-CK) (Wallimann 2015). Ainsi, chez les MMCK une biogénèse mitochondriale, une capacité oxydative plus élevée, une altération de l'homéostasie calcique ainsi qu'une diminution de la sensibilité à l'ADP et de la force explosive ont été observées dans les fibres musculaires glycolytiques menant, encore une fois, à une transition vers un métabolisme plus oxydatif (Kaasik 2003, Veld 2005, Vaarman 2008, Wallimann 2015).

Les études concernant les souris déficientes à la CK mitochondriale (miCK) n'expriment, à ce jour, que très peu d'effet de cette mutation, que ce soit sur le plan métabolique ou de la structure cellulaire. En effet, les études ne montrent actuellement aucun effet sur la capacité oxydative musculaire ni sur la force contractile (Veld 2005, Miotto et Holloway 2016). Aucun effet n'a non plus été observé pour les performances mesurées lors de tests triangulaires modérés et intenses chez les souris de 3 mois (Miotto et Holloway 2016), bien qu'il soit observé une diminution de l'exercice volontaire chez des souris miCK de 7-8 mois (Lygate 2009). De même les fonctions cardiaques semblent maintenues chez les souris miCK de 4 à 9 mois (Lygate 2009).

Bien que l'homéostasie énergétique puisse être compromise chez les souris miCK, MMCK et Double-KO, il se pourrait que les autres voies de phosphotransfert (AK) et de transport de l'ADP soient en mesure de maintenir un flux énergétique suffisant (Dzeja 2011, Nemetlu 2012, Yaniv 2013, Miotto et Holloway 2016). Néanmoins, des études supplémentaires sont nécessaires afin de préciser les adaptations possibles à cette mutation, notamment en cas de stress (activité physique) (Miotto et Holloway 2016).

Finalement, les mutations chez les souris Double-KO et MMCK impliquent une restructuration des organites cellulaires engendrant une transition d'un métabolisme glycolytique vers un métabolisme plus oxydatif permettant de maintenir le niveau de performance excepté en cas de forte intensité contractile. Cette transition est aussi observée lors du vieillissement naturel chez l'individu âgé (Coggan 1992, Hunter 2004, Brooks 2016) et, bien qu'aucun lien ne soit encore clairement établi entre ces voies de transfert d'énergie et le vieillissement, les compensations observées chez les souris CK déficientes pourraient nous aider à comprendre les diverses adaptations du métabolisme énergétique de l'homme au cours du vieillissement.

Concernant les souris miCK, trop peu d'études s'accordent pour déterminer les effets exacts de cette mutation. De plus, à ce jour, aucun article n'a évalué l'effet du vieillissement sur l'état physique et physiologique de ces souris. Notre deuxième étude avait donc pour but d'apporter une pierre à cet édifice, en évaluant dans un premier temps, l'évolution des capacités physiques avec l'âge de souris déficientes à la CK mitochondriale, permettant, dans un deuxième temps, d'analyser les diverses adaptations possibles.

B. Méthodologie

1. Elevage et reproduction des souris miCK

La créatine kinase mitochondriale (mi-CK) est responsable du transfert du phosphate à haute énergie de la mitochondrie vers les sites d'utilisation de l'énergie où se trouve la créatine kinase cytosolique (MM-CK). Elle appartient à la famille des isoenzymes créatine kinase dont deux sont mitochondriaux : mi-CK sarcomérique (scMi-CK) et mi-CK omniprésente (ubiquités : uMi-CK).

Chez les rongeurs et les humains, la scMi-CK est exprimée spécifiquement et uniquement dans le muscle squelettique et cardiaque. L'isoenzyme uMi-CK est exprimée dans de nombreux tissus et principalement au niveau du cerveau, de l'intestin et des reins (Payne 1994).

Les souris déficientes pour scMi-CK ont été produites à partir de souris hétérozygotes provenant du laboratoire du Professeur Stefan Neubauer (Department of Cardiovascular Medicine, University of Oxford). À l'origine ces souris ont été créées par le laboratoire du Professeur Bé Wieringa (Nijmegen University, Pays-Bas) (Steeghs K et al. 1998). Une fois arrivées en France, les souris mâles hétérozygotes ont été croisées avec des femelles puis les embryons ont été réimplantés à des femelles gestantes (Charles Rivers) pour enfin être transportés au CERFE Génopole. Les portées sont nées dans l'animalerie du CERFE. L'élevage a été suivi par le CERFE et le génotypage a été réalisé par notre

laboratoire pour obtenir une lignée de souris scMiCK-KO que nous nommerons dans cette étude « souris miCK ». Les souris qui n'ont pas manifesté le phénotype scMi-CK constituaient alors le groupe sauvage/contrôle. Des bouts d'oreille ont été récupérés après la naissance pour le génotypage utilisant les kits d'extraction d'ADN (Qiagen 56304) (**Annexe 5**).

Au total 72 souris mâles (dont 38 miCK et 34 sauvages) et 45 souris femelles (dont 34 miCK et 11 sauvages) ont été génotypées et utilisées. Cependant, cette étude se concentrera uniquement sur les souris mâles. Les données de l'étude sur les femelles et leurs analyses étant actuellement incomplètes.

Sur ce total de 72 souris mâles utilisées, 5 souris sont mortes avant leur sacrifice. Trois groupes d'âges différents (6, 9 et 18 mois) ont été choisis pour les souris miCK et contrôles, représentant environ 30, 50 et 64 ans en âge humain soit les catégories « jeune-adulte », « adulte-sénior » et « âgée ».

Les groupes obtenus pour les souris mâles sont les suivant :

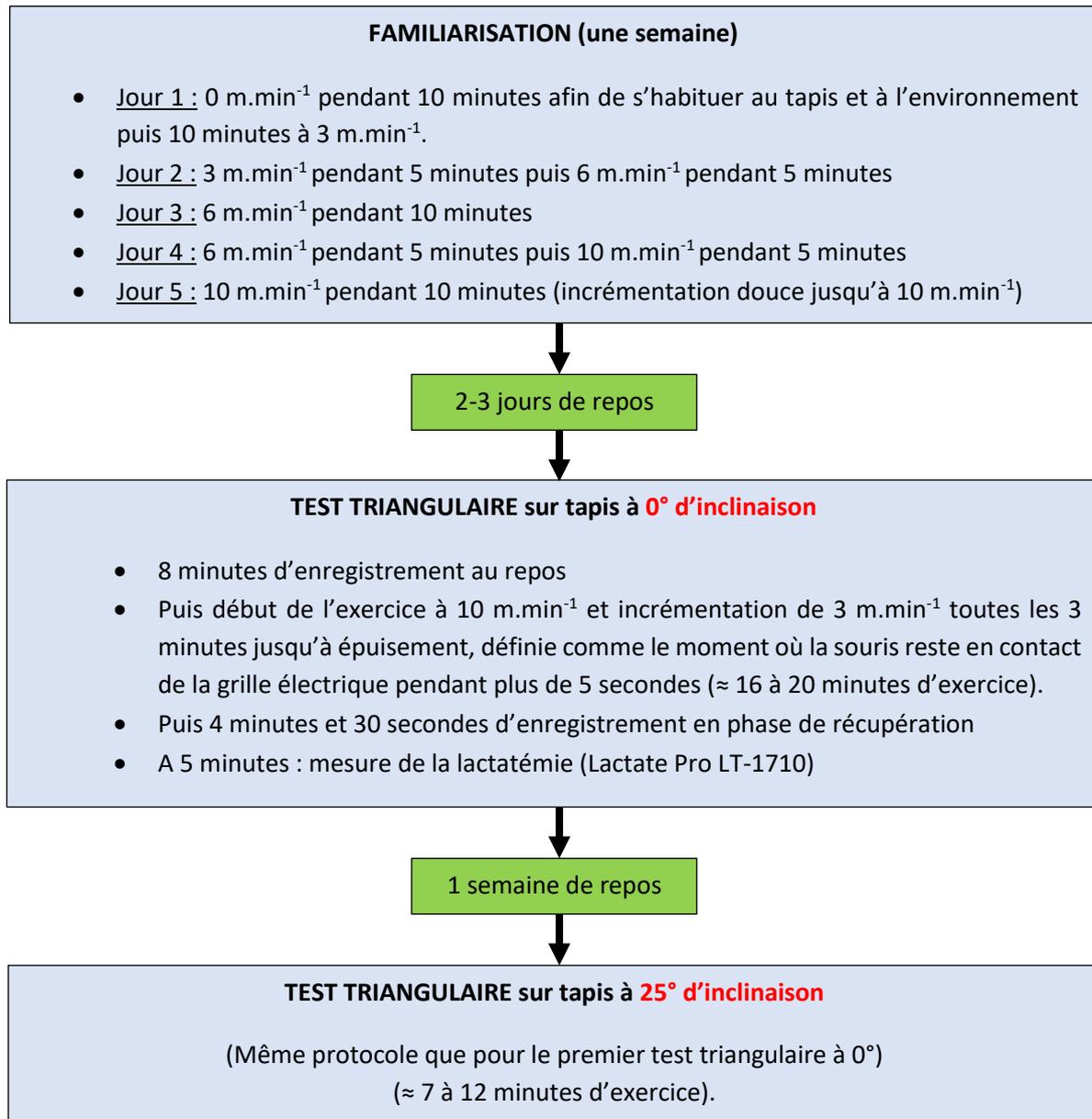
- 35 souris miCK mâles :
 - 13 souris sacrifiées à 6 mois
 - 13 souris sacrifiées à 9 mois
 - 9 souris sacrifiées à 18 mois
- 32 souris contrôles mâles :
 - 12 souris sacrifiées à 6 mois
 - 10 souris sacrifiées à 9 mois
 - 10 souris sacrifiées à 18 mois

Pour rentabiliser au maximum l'élevage de ces souris, les souris désignées pour être sacrifiées à 18 mois ont aussi réalisé les protocoles de tests à 6 et 9 mois. Il en est de même pour les souris sacrifiées à 9 mois qui ont réalisé les protocoles de tests à 6 mois. L'écart entre les tranches d'âge étant important, les premiers protocoles de tests à 6 et 9 mois n'influençaient pas l'évaluation des performances à 9 ou 18 mois. Il est donc normal de trouver dans cette étude une différence de nombre de sujets entre les données dépendantes du sacrifice et les données dépendantes des tests triangulaires.

2. Familiarisation et évaluation de la performance

Les souris miCK et contrôles ont été évaluées à l'âge de 6 mois, 9 mois et 18 mois. L'évaluation de la performance à ces différents âges a été effectuée par deux tests triangulaires (à 0° et à 25° d'inclinaison) sur tapis roulant Columbus à une voie permettant la mesure des échanges de gaz

(Modular Enclosed Metabolic Treadmill, Columbus Instruments). Ces tests triangulaires se déroulaient systématiquement selon le protocole suivant :



L'objectif du test à 25° était d'évaluer les performances lors d'un exercice plus court et plus intense, se dirigeant ainsi plus vers des exercices de force. Cette inclinaison étant importante, le test à 0° a été réalisé en premier afin que les souris aient déjà testé un exercice jusqu'à épuisement moins difficile. Une semaine de repos a été octroyé entre ces deux tests afin d'éviter toutes influences de la fatigue musculaire du premier test sur le deuxième.

Lors de ce test la performance était évaluée et se représentait par la vitesse maximale atteinte V_{peak} (correspondant à la vitesse du dernier palier maintenu un minimum de 30 secondes) et par le temps

total de l'exercice avant épuisement nommé « Temps limite ». De plus, la lactatémie a été mesurée en prélevant une goutte de sang provenant d'une veine de la queue, grâce au Lactate Pro LT-1710 (Arkray Inc., Kyoto, Japan).

3. Analyses respiratoires :

Lors de ces tests incrémentés sur tapis, les mesures de gaz (O_2 , CO_2) étaient réalisées automatiquement toutes les 5 secondes par l'analyseur de gaz Columbus calculant la consommation d'oxygène (VO_2). Pour permettre la comparaison avec les valeurs sur l'humain, le VO_2 était exprimé en $ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{0.75}$.

De plus, le temps nécessaire à l'atteinte du VO_{2max} ainsi que le temps passé à VO_{2max} a été mesuré. Ce dernier paramètre correspond à la durée pendant laquelle les souris sont restées à VO_{2max} sans variation de plus de 1% du $VO_{2Reserve}$ correspondant au $(VO_{2max} - VO_{2min})$. Ce $VO_{2Reserve}$ étant relativement faible chez la souris, le 1% ne pouvait être choisi en fonction du VO_{2max} , la marge de décalage avec le VO_{2max} aurait été trop importante. Nous exprimerons le temps passé à VO_{2max} en pourcentage du temps d'exercice afin de permettre une meilleure comparaison entre toutes les souris, quelle que soit leur performance.

4. Méthode de sacrifice : prélèvements musculaires et urinaires

Les sacrifices des souris étaient effectués après un minimum de quarante-huit heures de repos après le dernier test triangulaire (25°) par injection intrapéritonéale de pentobarbital à une dose de 100 mg/kg. Lors de ce sacrifice, le poids des souris a été mesuré. De plus, le ventricule gauche du muscle cardiaque, le foie, le diaphragme et les muscles squelettiques (gastrocnémiens, extensor digitorum longus (EDL), tibial antérieur (TA), soleus et quadriceps) ont été immédiatement récupérés et plongés dans l'azote liquide puis stockés à $-80^\circ C$. Une partie de ces échantillons a été mise dans une solution miRNA pour des futures analyses. Un échantillon d'urine et de plasma sanguin (directement dans le cœur) ont aussi été collectés lorsque cela était possible et stocké à $-80^\circ C$ afin de réaliser des analyses métabolomiques.

5. Analyses statistiques

Les données anatomiques ont été notées comme « Moyenne \pm SEM » et le seuil de significativité statistique a été fixé à $p < 0,05$. Pour étudier les effets globaux de l'âge sur les différents groupes (contrôle et miCK), une analyse de variance à un facteur a été utilisée. Dans le cas où des différences significatives étaient observées ($p < 0,05$), des tests post-hoc étaient utilisés : la méthode de Holm-Sidak en cas de données ne suivant pas une loi normale de distribution et le test de Kruskal-Wallis dans le cas contraire. Les comparaisons intergroupes au même âge ont été effectuées avec un test de Student pour échantillons non appariés. Un test non-paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé pour les données ne suivant pas la loi normale de distribution. Concernant les analyses de corrélations, celles-ci étaient réalisées grâce au coefficient de Spearman.

C. Résultats

1. Données anatomiques

L'analyse des données anatomiques des souris miCK et contrôles est donnée dans le **Tableau 5** et la **figure 28** ci-dessous. Que nous prenions uniquement les souris sacrifiées ou le total des souris pesées aux âges de 6, 9 et 18 mois, nous obtenons les mêmes résultats concernant le poids de corps. Nous avons ainsi obtenu une augmentation du poids corporel des souris sauvages (groupe contrôle) avec l'âge entre 6 et 9 mois ($p < 0,05$), entre 9 et 18 mois ($p < 0,01$) et entre 6 et 18 mois ($p < 0,001$), devenant à 18 mois significativement supérieur ($p < 0,05$), à celui des souris miCK, dont le poids n'a pas évolué avec l'âge (**Tableau 5** et **Figure 28**).

Cette augmentation de poids avec l'âge chez les souris contrôles n'est cependant pas accompagnée d'une augmentation de la masse musculaire squelettique. En effet, les poids du soleus, TA et EDL (rapporté au poids de corps) ont, au contraire, diminué à 9 mois et 18 mois chez les souris contrôles (**Tableau 5**). Le poids du foie était lui aussi inférieur pour les souris contrôles de 9 mois comparé aux souris contrôles de 6 mois ($p < 0,001$). Seul le poids du foie (valeurs absolues) et du cœur (valeurs absolues) était supérieur à 18 mois pour les souris contrôles comparé aux souris contrôles de 9 mois ($p < 0,05$) pour le foie et aux souris de 6 mois ($p < 0,01$) et 18 mois ($p < 0,01$) pour le cœur.

Concernant les souris miCK, aucun changement avec l'âge n'a été détecté dans la masse musculaire squelettique. Néanmoins, à l'âge de 6 mois, le poids du foie et des muscles squelettiques soleus, TA et EDL (rapporté au poids de corps) était plus faible chez les souris miCK que chez les souris contrôles du même âge (foie : $p < 0,001$, soleus : $p < 0,001$, TA : $p < 0,05$, EDL : $p < 0,05$). Ces différences étant

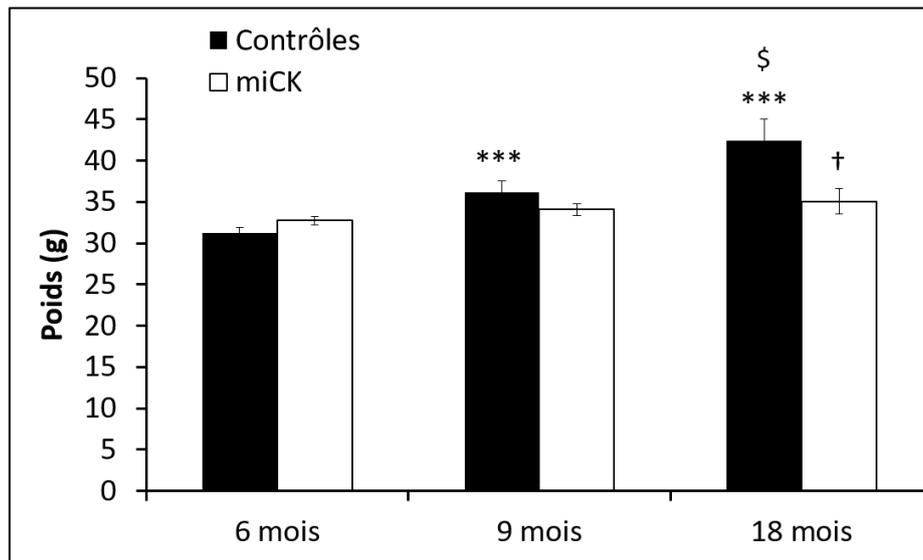
estompées avec l'avancée de l'âge par la diminution du poids de ces muscles squelettiques et du foie chez les souris contrôles. D'autre part, le poids du cœur (valeurs absolues et valeurs rapportées au poids de corps) était plus élevé chez les souris miCK de 18 mois que chez les souris miCK de 6 mois ($p<0,001$) et 9 mois ($p<0,001$). A la différence des souris contrôles de 18 mois, le poids du cœur rapporté au poids de corps était lui aussi augmenté, devenant ainsi significativement supérieur pour les souris miCK de 18 mois ($p<0,05$) (Tableau 5).

Tableau 5 : Données anatomiques des souris miCK et contrôles ayant été sacrifiées à 6, 9 et 18 mois.

Les moyennes sont exprimées avec les SEM. * $p<0,05$ versus le même groupe à 6 mois ; \$ $p<0,05$ versus le même groupe à 9 mois ; † $p<0,05$ versus le groupe contrôle au même âge (deux ou trois symboles équivalent respectivement à $p<0,01$ et $p<0,001$).

	6 mois		9 mois		18 mois	
	Contrôles (n=12)	miCK (n=13)	Contrôles (n=10)	miCK (n=13)	Contrôles (n=10)	miCK (n=9)
Poids (g)	29,3 ± 0,77	31,3 ± 0,88	31,9 ± 0,97 *	32,8 ± 0,74	40,2 ± 2,17 *** \$\$	32,6 ± 1,14 ††
Cœur (mg)	142,3 ± 6,3	139,4 ± 3,34	150 ± 5,27	141 ± 6,05	182,4 ± 8,1 ** \$\$	181 ± 8,6 *** \$\$\$
Cœur / poids de corps (mg/g)	4,85 ± 0,15	4,47 ± 0,13	4,72 ± 0,17	4,33 ± 0,21	4,62 ± 0,23	5,56 ± 0,2 *** \$\$\$ †
Foie (mg)	1510,9 ± 76,2	1329,4 ± 64,5	1349,7 ± 70,5	1477,2 ± 67,2	1962,3 ± 270,7 \$	1711,1 ± 97,4 **
Foie / poids de corps (mg/g)	51,4 ± 1,61	42,3 ± 1,41 †††	42,2 ± 1,65 ***	44,9 ± 1,32	48,2 ± 6,73	52,6 ± 2,57 ** \$
Soleus (mg)	9,91 ± 0,4	9,11 ± 0,35	9,3 ± 0,34	9,45 ± 0,15	9,85 ± 0,25	8,61 ± 0,57
Soleus / poids de corps (mg/g)	0,34 ± 0,01	0,29 ± 0,006 †††	0,29 ± 0,01 **	0,29 ± 0,007	0,25 ± 0,016 *** \$	0,26 ± 0,02
TA (mg)	46,1 ± 1,33	42,5 ± 1,96	41,7 ± 2,46	40,6 ± 1,58	43,9 ± 1,87	42,4 ± 1,75
TA / poids de corps (mg/g)	1,58 ± 0,04	1,37 ± 0,08 †	1,31 ± 0,08 **	1,24 ± 0,05	1,14 ± 0,1 ***	1,30 ± 0,04
EDL (mg)	10,0 ± 0,38	9,09 ± 0,37	9,13 ± 0,42	9,45 ± 0,42	9,56 ± 0,47	8,43 ± 0,66
EDL / poids de corps (mg/g)	0,34 ± 0,01	0,29 ± 0,015 †	0,29 ± 0,013 **	0,29 ± 0,012	0,24 ± 0,016 *** \$	0,26 ± 0,02

Figure 28 : Poids de toutes les souris miCK et contrôles ayant été pesées avant les tests triangulaires de 6, 9 et 18 mois. Le nombre n de chaque groupe à 6 et 9 mois est donc supérieur que pour le précédent tableau car une partie des souris seulement était sacrifiée à cet âge. Contrôles 6 mois (n=31), miCK 6 mois (n=38), Contrôles 9 mois (n=20), miCK 9 mois (n=26), Contrôles 18 mois (n=11), miCK 18 mois (n=11). ***p<0,001 versus le même groupe à 6 mois ; \$ p<0,05 versus le même groupe à 9 mois ; † p<0,05 versus le groupe contrôle au même âge.



2. Performances

Les performances ont été évaluées par la vitesse maximale atteinte V_{peak} (**Figure 29ab**) et par le Temps limite (**Figure 30ab**). Aucune différence n'a été observée entre les groupes contrôles et miCK en termes de performance, et cela à tout âge. L'évolution de leur performance avec l'âge était en effet similaire. Nous avons ainsi observé un maintien de la vitesse maximale atteinte (V_{peak}) et du Temps limite entre 6 et 9 mois chez ces deux groupes de souris. Néanmoins, une baisse de la performance à 18 mois a été observé chez ces deux groupes.

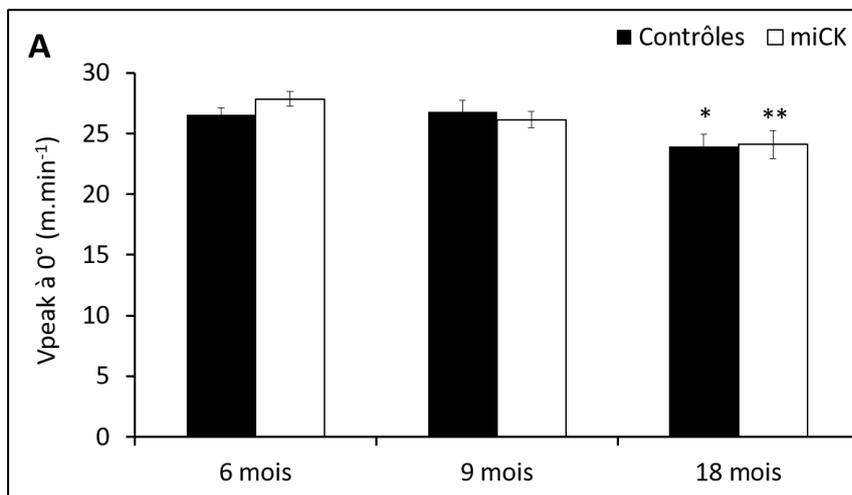
En effet, pour le test triangulaire à 0° d'inclinaison :

V_{peak} a significativement diminuée entre 6 mois et 18 mois pour les souris contrôles ($p<0,05$) et miCK ($p<0,01$) (**Figure 29a**). Il en est de même pour le Temps limite, lequel diminue entre 6 et 18 mois pour le groupe contrôle ($p<0,05$) et miCK ($p<0,05$) avec une diminution qui semble se produire principalement entre 9 et 18 mois pour le groupe contrôle ($p<0,05$) (**Figure 30a**).

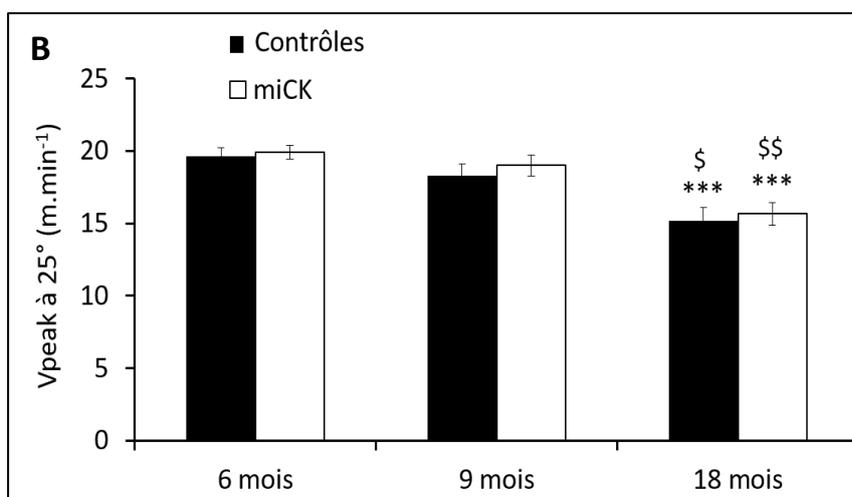
Pour le test triangulaire à 25° :

V_{peak} a très significativement diminuée entre 6 et 18 mois pour les groupes contrôle ($p < 0,001$) et miCK ($p < 0,001$), mais cette diminution semble être principalement accentuée entre 9 et 18 mois pour les deux groupes (contrôle : $p < 0,05$), miCK : $p < 0,01$) (**Figure 29b**). La même observation a été faite pour le Temps limite du test à 25°, qui a été diminué entre 6 et 18 mois pour les groupes contrôles ($p < 0,001$) et miCK ($p < 0,001$) et plus particulièrement entre 9 et 18 mois (contrôle : $p < 0,01$, miCK : $p < 0,01$) (**Figure 30b**).

Figure 29 : Vitesse maximale atteinte (V_{peak}) lors des tests triangulaires à 0° (A) et à 25° (B) d'inclinaison. Le nombre n de souris de chaque groupe est donné dans les tableaux correspondant. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ versus le même groupe à 6 mois. \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ versus le même groupe à 9 mois.

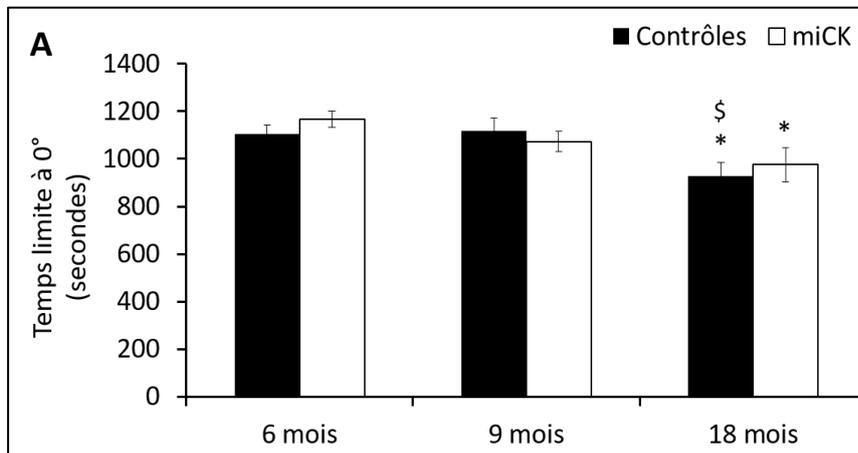


	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	0°	0°
: 6 mois	31	38
: 9 mois	20	26
: 18 mois	11	10

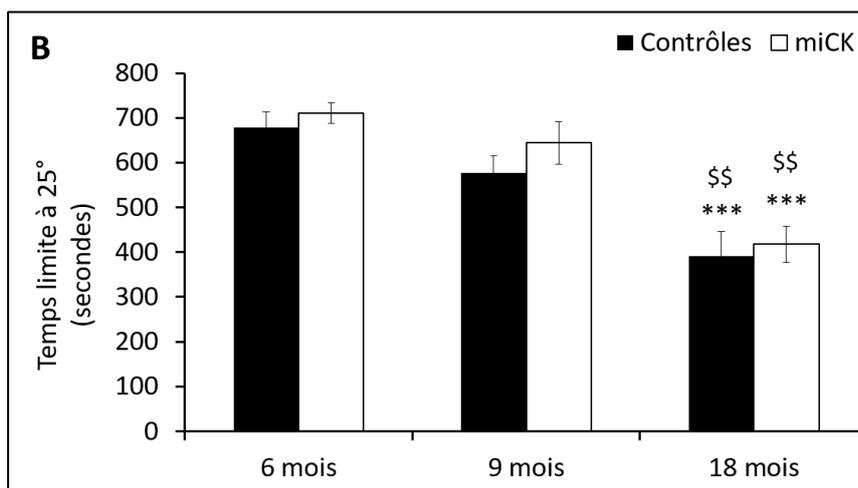


	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	25°	25°
: 6 mois	24	10
: 9 mois	13	18
: 18 mois	11	9

Figure 30 : Temps limite réalisé lors des tests triangulaires à 0° d'inclinaison (A) et à 25° d'inclinaison (B). Le nombre n de souris de chaque groupe est donné dans les tableaux correspondant. * p<0,05 ; ** p<0,01 ; *** p<0,001 versus le même groupe à 6 mois. \$ p<0,05 ; \$\$ p<0,01 versus le même groupe à 9 mois.



	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	0°	0°
: 6 mois	31	38
: 9 mois	20	26
: 18 mois	11	10



	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	25°	25°
: 6 mois	24	10
: 9 mois	13	18
: 18 mois	11	9

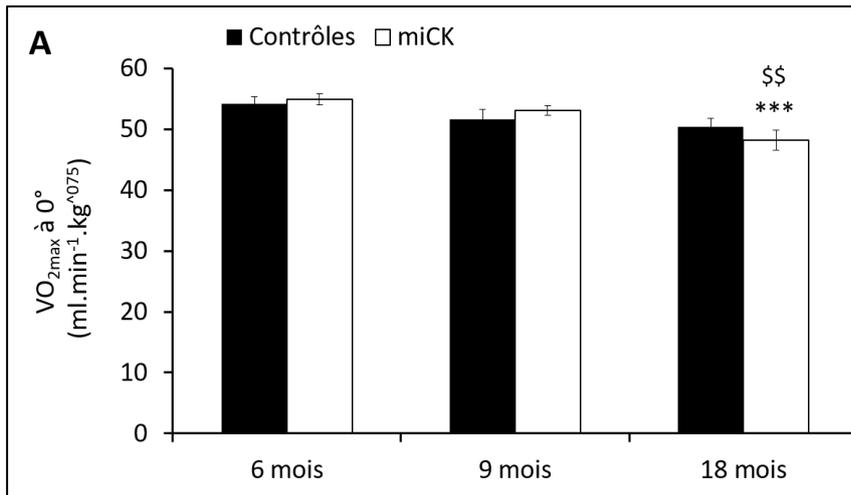
3. Consommation maximale d'oxygène (VO_{2max})

Tout comme pour la performance, aucun changement de VO_{2max} n'a été observé chez les groupes contrôle et miCK entre le 6^{ème} et le 9^{ème} mois. Cependant, à 18 mois, seul le groupe miCK a montré une diminution du VO_{2max} atteint lors des tests à 0° et à 25° d'inclinaison. A 0°, le groupe miCK de 18 mois avait un VO_{2max} significativement différent de celui des groupes miCK de 6 mois (p<0,001) et de 9 mois (p<0,01) (**Figure 31a**). Bien que la significativité fût moindre pour le test 25° d'inclinaison, le groupe miCK de 18 mois avait aussi un VO_{2max} inférieur à celui du groupe de 6 mois (p<0,05) et du groupe de 9 mois (p<0,05) (**Figure 31b**). Aucune baisse significative du VO_{2max} n'a été détecté pour le groupe contrôle à 18 mois.

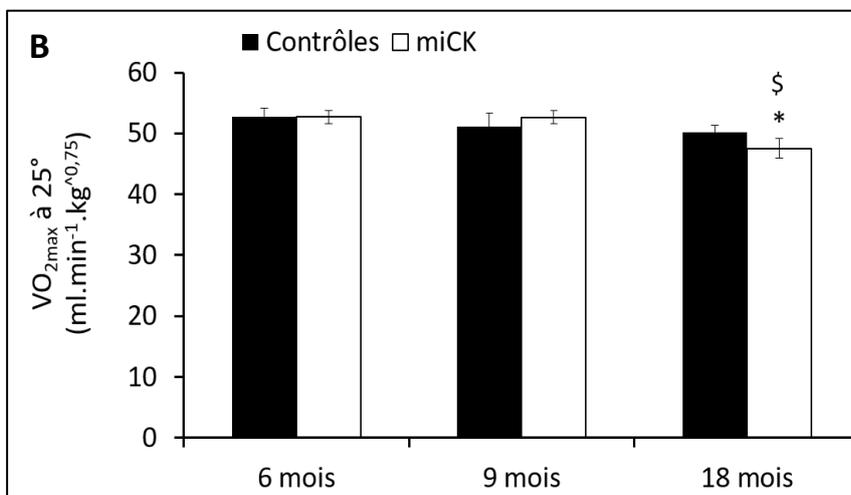
D'autre part, aucune corrélation n'a été trouvée entre le VO_{2max} atteint et la performance réalisée aux différents tests.

Figure 31 : VO_{2max} atteint lors des tests triangulaires à 0° d'inclinaison (A) et à 25° d'inclinaison (B).

Le nombre n de souris de chaque groupe est donné dans les tableaux correspondants. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ versus le même groupe à 6 mois. \$ $p < 0,05$; \$\$ $p < 0,01$ versus le même groupe à 9 mois.



	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	0°	0°
: 6 mois	27	33
: 9 mois	20	23
: 18 mois	11	10

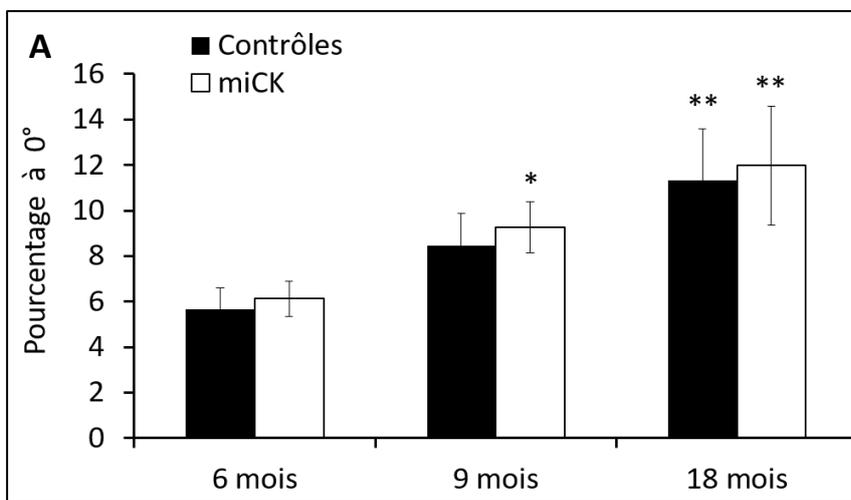


	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	25°	25°
: 6 mois	21	10
: 9 mois	13	18
: 18 mois	10	9

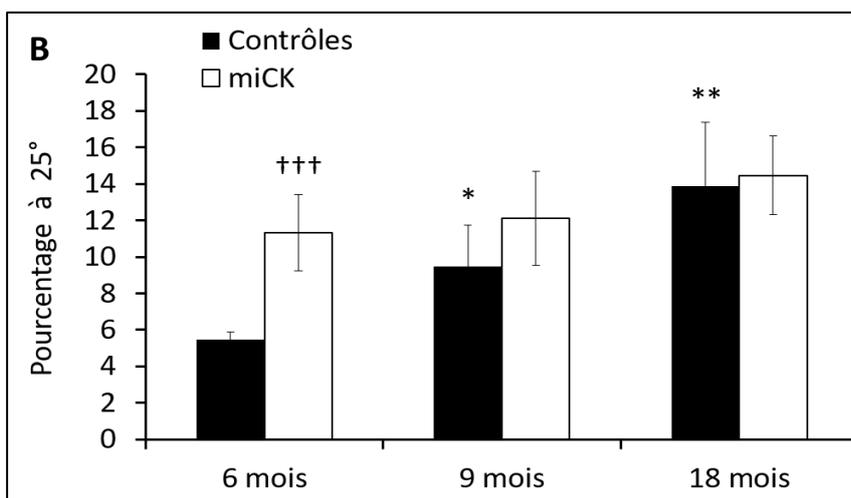
Des résultats différents ont été observés concernant le temps passé à VO_{2max} . Pour le test triangulaire à 0° d'inclinaison, ce pourcentage de temps d'exercice pendant lequel les souris étaient à VO_{2max} suivait la même cinétique d'augmentation avec l'âge chez les souris contrôles et miCK (**Figure 32a**) passant de 5,65% à 6 mois à 11,31% à 18 mois pour le groupe contrôle ($p < 0,01$), et passant de 6,13 à 11,97% pour le groupe miCK ($p < 0,01$). A 9 mois l'augmentation n'était pas assez significative chez le groupe contrôle ($p = 0,09$) tandis qu'elle l'était pour le groupe miCK ($p < 0,05$).

Pour le test triangulaire à 25° d'inclinaison, le temps passé à VO_{2max} suivait la même cinétique pour le groupe contrôle, avec une augmentation significative de 6 à 9 mois (p<0,05) et de 6 à 18 mois (p<0,01). Cependant, pour les souris miCK, aucun changement n'a été observé pour le temps passé à VO_{2max}, celui-ci étant dès 6 mois très significativement supérieur à celui des souris contrôles (p<0,001) (Figure 32b).

Figure 32 : Pourcentage du temps passé à VO_{2max} lors des tests triangulaires à 0° d'inclinaison (A) et à 25° d'inclinaison (B). Le nombre n de souris de chaque groupe est donné dans les tableaux correspondant. *p<0,05 ; **p<0,001 versus le même groupe à 6 mois. ††† p<0,001 versus le groupe contrôle au même âge.



	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	0°	0°
: 6 mois	27	33
: 9 mois	20	23
: 18 mois	11	10



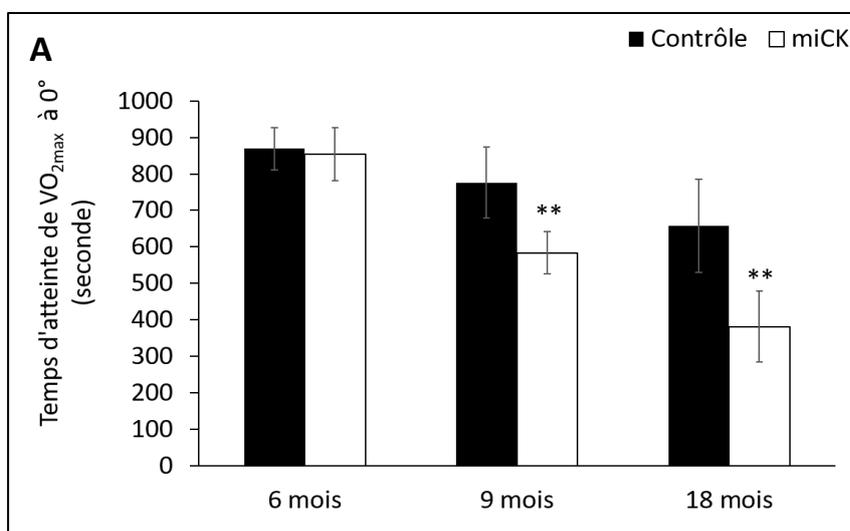
	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	25°	25°
: 6 mois	21	10
: 9 mois	13	18
: 18 mois	10	9

Afin de vérifier et compléter ces résultats, le temps d'atteinte du VO_{2max} lors des tests triangulaires a aussi été calculé. Celui-ci correspond au temps nécessaire aux souris pour atteindre leur VO_{2max} pendant le test. Les performances (Temps limite) des souris contrôles et miCK étant similaires, ce paramètre est exprimé en secondes et non en pourcentage du temps d'exercice. Les données exprimées en pourcentage du temps d'exercice donnaient les mêmes résultats et significativités pour les deux groupes.

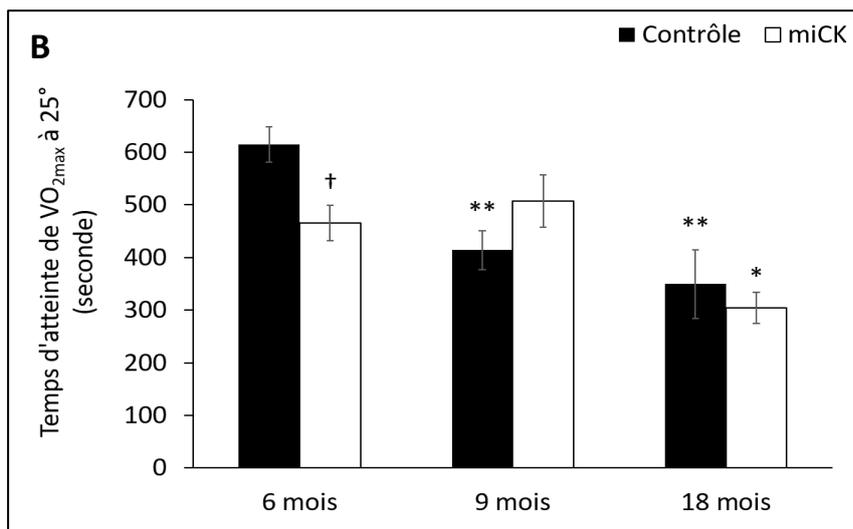
Les résultats obtenus concordent avec ceux observés pour le temps passé à VO_{2max} , montrant ainsi que les souris ayant passé plus de temps à VO_{2max} , ont aussi atteint ce VO_{2max} plus rapidement. Pour le test triangulaire à 0° d'inclinaison, aucune différence n'a été observée à 6, 9 et 18 mois entre le groupe contrôle et le groupe miCK. Néanmoins, les souris miCK ont montré une diminution significative du temps d'atteinte du VO_{2max} entre 6 mois et 9 mois ($p < 0,01$) et entre 6 mois et 18 mois ($p < 0,01$), résultats n'ayant pas été observés chez les souris contrôles (**Figure 33a**).

Concernant le test triangulaire à 25° d'inclinaison, une différence significative était observée à 6 mois entre les deux groupes contrôle et miCK avec un temps d'atteinte à VO_{2max} plus rapide chez les souris miCK ($p < 0,05$) à 6 mois. Chez ces souris miCK ce temps d'atteinte à VO_{2max} a par la suite diminué à 18 mois comparé au groupe de 6 mois ($p < 0,05$). Pour les souris contrôles, la diminution du temps d'atteinte à VO_{2max} a été observée dès l'âge de 9 mois ($p < 0,01$). A 18 mois, une différence significative était toujours observée par rapport au même groupe contrôle de 6 mois ($p < 0,01$) (**Figure 33b**).

Figure 33 : Temps d'atteinte à VO_{2max} lors des tests triangulaires à 0° d'inclinaison (A) et à 25° d'inclinaison (B). Le nombre n de souris de chaque groupe est donné dans les tableaux correspondants. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ versus le même groupe à 6 mois. † $p < 0,05$ versus le groupe contrôle au même âge.



	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	0°	0°
: 6 mois	27	33
: 9 mois	20	23
: 18 mois	11	10

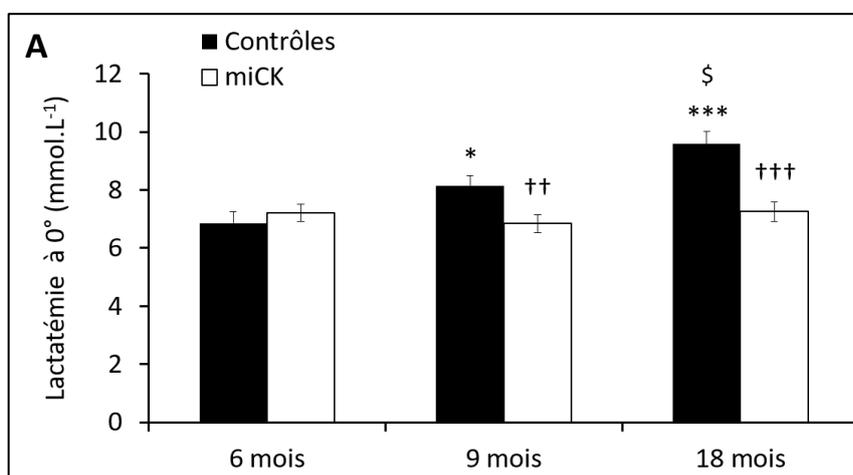


	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	25°	25°
: 6 mois	21	10
: 9 mois	13	18
: 18 mois	10	9

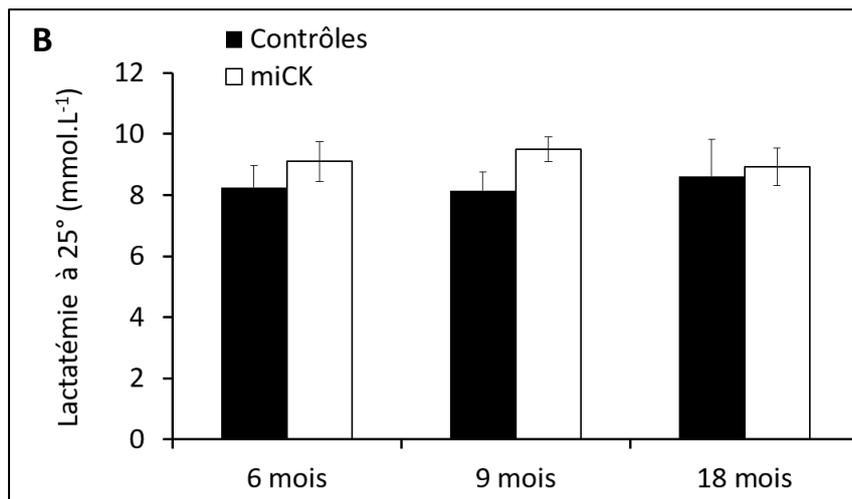
4. Lactatémie

Les valeurs de lactatémie mesurées 5 minutes après l'arrêt de l'exercice n'ont pas changé chez le groupe miCK au cours du vieillissement, que ce soit pour les tests à 0° d'inclinaison ou à 25° d'inclinaison (**Figure 34ab**). Néanmoins, elle était significativement inférieure à la lactatémie des souris contrôles à l'âge de 9 mois ($p < 0,01$) et de 18 mois ($p < 0,001$) (**Figure 34a**). Ces différences sont dues à l'augmentation de la lactatémie mesurée chez les souris contrôles entre 6 et 9 mois ($p < 0,05$), entre 6 et 18 mois ($p < 0,001$) et entre 9 mois et 18 mois ($p < 0,05$) (**Figure 34a**). Aucune différence significative n'a été observée pour le test à 25° d'inclinaison (**Figure 34b**).

Figure 34 : Lactatémie mesurée 5 minutes après arrêt de l'exercice lors des tests triangulaires à 0° d'inclinaison (A) et à 25° d'inclinaison (B). Le nombre n de souris de chaque groupe est donné dans les tableaux correspondants. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ versus le même groupe à 6 mois. \$ $p < 0,05$ versus le même groupe à 9 mois. †† $p < 0,01$; ††† $p < 0,001$ versus le groupe contrôle au même âge.



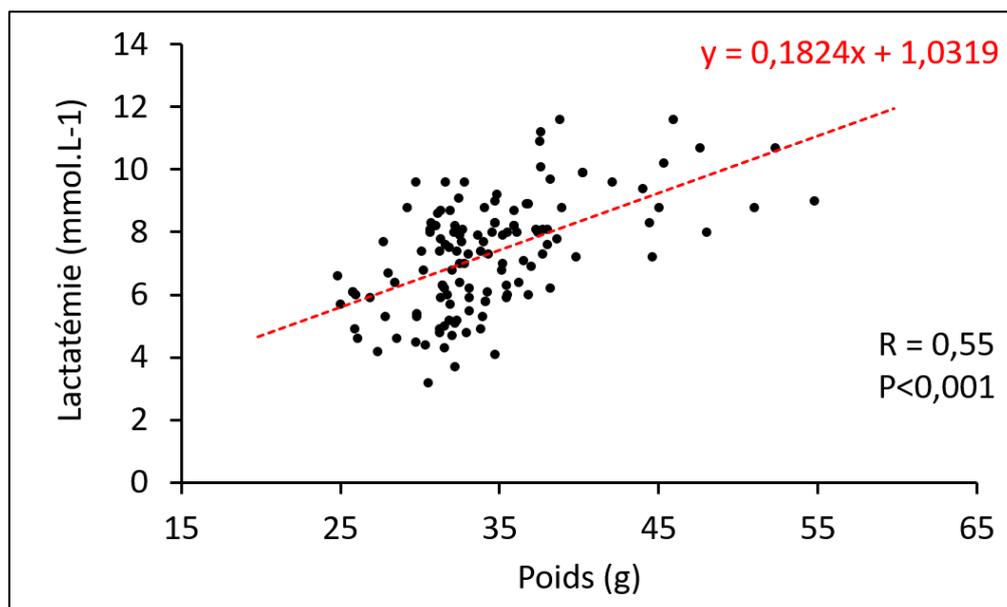
	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	0°	0°
: 6 mois	31	38
: 9 mois	20	26
: 18 mois	11	10



	Nombre "n" de souris	
	Contrôles	Mi-CK
Inclinaison:	25°	25°
: 6 mois	24	10
: 9 mois	13	18
: 18 mois	11	9

Aucune corrélation entre la lactatémie et la performance n'a été observée, néanmoins une corrélation entre la lactatémie mesurée 5 minutes post-exercice à 0° d'inclinaison et le poids des souris a été trouvée (en prenant tous les tests réalisés à tout âge). Corrélation donnant un $r=0,59$ ($p<0,001$) pour les souris contrôles, un $r=0,46$ ($p<0,001$) pour les souris miCK, et un $r=0,55$ ($p<0,001$) pour toutes les souris réunies (Figure 35).

Figure 35 : Corrélation entre la lactatémie mesurée 5 minutes post-exercice et le poids des souris lors des tests à 0° d'inclinaison quel que soit l'âge. Nombre n de souris : 130.



5. Discussion

A ce jour, un certain nombre d'études se sont intéressées aux souris déficientes pour l'enzyme de la créatine kinase, afin de comprendre les mécanismes et impacts de cette délétion et leurs contributions à la sarcopénie et à la détérioration du métabolisme énergétique au cours du vieillissement. Bien qu'une diminution de la capacité explosive, de la force, du transport de calcium ainsi que de nombreuses adaptations architecturales ait été détectée chez les souris Double-KO (miCK et MMCK) et chez les souris MMCK (cf. contexte), très peu de résultats concluants ont été obtenus chez les souris déficientes à la mi-CK, et aucune étude n'a étudié les capacités physiques et respiratoires de ces souris au cours du vieillissement. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer les capacités physiques et physiologiques de ces souris déficientes à la CK mitochondriale (mi-CK) et d'en approfondir nos connaissances dans les mécanismes d'adaptation au cours de l'âge.

Les résultats obtenus montrent des différences morphologiques importantes au niveau du poids corporel et des muscles squelettiques entre le groupe contrôle et le groupe miCK, ainsi que des différences au niveau de la lactatémie. En revanche, aucune différence dans les performances n'a été observée, bien que l'on ait montré une réduction du VO_{2max} à 18 mois chez les miCK, ainsi qu'un temps d'atteinte et un temps passé à VO_{2max} plus élevé chez les jeunes souris miCK lors du test pratiqué sur tapis incliné à 25°.

Evolution du poids de corps :

Les analyses anatomiques montrent des différences au niveau du poids du corps principalement. En effet, seul le poids total des souris sauvages a augmenté avec l'âge, tandis que le poids des souris miCK n'a pas été modifié entre 6 et 18 mois, devenant significativement inférieur au poids des souris contrôles à 18 mois. Cette différence de poids de corps peut s'expliquer par une augmentation de la masse grasseuse chez les souris contrôles avec l'âge, comme nous le montre la diminution du poids des muscles squelettiques rapporté au poids du corps chez les souris contrôles uniquement. La même différence se retrouve d'ailleurs pour le cœur, dont le poids en valeur absolue augmente avec l'âge chez les deux groupes mais se retrouve uniquement augmenté chez le groupe miCK lorsqu'il est rapporté au poids de corps. Cette augmentation du ratio masse grasseuse/masse musculaire chez le rongeur ou même l'homme avec l'âge est aujourd'hui bien connue (Figueiredo 2009, Houtkooper 2011, Flack 2011, Mitchell 2012), cependant aucune étude n'avait encore montré que le poids de corps de souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale ne variait pas avec l'âge et que seul le cœur et le foie voyaient leur poids augmenter avec l'âge, que ce soit en valeur absolue

ou rapportée au poids de corps. Une explication à ce phénomène que nous pouvons avancer serait une utilisation plus accrue du métabolisme oxydatif chez les souris miCK, qui, de fait, utiliseraient davantage les acides gras comme substrat énergétique, limitant ainsi la prise de poids.

L'hypertrophie cardiaque, relative au poids de corps, observée avec l'âge chez les souris miCK pourrait être expliquée par une hypertrophie habituellement existante avec l'âge chez les souris sauvages (Dai et Rabinovitch 2009), mais non accompagnée d'une prise de masse grasseuse. Le poids du muscle cardiaque rapporté au poids du corps devenant par conséquent supérieur chez les souris miCK à l'âge de 18 mois uniquement. Des études n'ont d'ailleurs observé aucune hypertrophie cardiaque chez les souris miCK à 7 mois et jusqu'à 1 an d'âge (Spindler 2002, Lygate 2009), indiquant que cette hypertrophie cardiaque serait principalement due à l'âge avancé. Toutefois ces observations restent discutables. En effet, une étude de Nahrendorf en 2005 a montré qu'une déficience de mi-CK chez des souris de 9-10 mois induisait une hypertrophie cardiaque, expliquant que les dysfonctions de l'homéostasie énergétique (telle qu'une déficience de mi-CK) pourraient engendrer des mécanismes provoquant une hypertrophie cardiaque. Les causes et processus de cette hypertrophie restent encore à élucider (Nahrendorf 2005). Des études et analyses supplémentaires (impact des ROS, homéostasie calcique...) sont nécessaires afin d'évaluer si l'hypertrophie cardiaque observée chez nos souris miCK de 18 mois est due à hypertrophie naturelle additionnée à une non-prise de masse grasseuse, ou à la déficience de mi-CK.

Des performances maintenues :

Jusqu'à aujourd'hui, aucune étude n'a montré de différence au niveau des performances à l'exercice entre les souris miCK et les souris sauvages (Steeghs 1997, Miotto et Holloway 2016). Notre étude, ne montrant aucune différence à tout âge entre les souris miCK et contrôles lors des tests d'intensité modérée et élevée est en accord avec ces observations. De même, une diminution des performances a été observée chez les souris âgées (18 mois) miCK et contrôles, et bien que cet âge ne soit pas encore un âge sénescence, ces diminutions concordent avec les études transversales ou longitudinales (Schefer 1996, McMahon 2014, McMullan 2016, Soffe 2016). Ces résultats montrent que des adaptations se produisent chez les souris miCK permettant de compenser cette perte de flux énergétique normalement effectué par les navettes PCr/Cr, en accord avec les études ayant testées les capacités physiques et contractiles de souris miCK (Steeghs 1997, Miotto et Holloway 2016). Cependant, les mécanismes précis de ces adaptations ne sont pas encore établis. Nos futures analyses métabolomiques et protéiques (MCT, CS, VDAC,...) pourront sûrement éclaircir certains de ces mécanismes.

Consommation d'oxygène :

Concernant le débit maximal d'oxygène (VO_{2max}), il apparaît une différence importante dans le temps passé à VO_{2max} lors des tests d'intensité élevée (25° d'inclinaison) à 6 mois entre le groupe contrôle et le groupe miCK. En effet, les souris miCK passeraient ainsi plus de temps à VO_{2max} que les souris contrôles, en atteignant plus rapidement leur valeur maximale de VO_{2max} pour cet exercice. Une explication à ces observations pourrait être due à une des rares adaptations actuellement observée à l'exercice chez les souris miCK : l'augmentation de la sensibilité à l'ADP indépendante de la créatine (Cr). En effet, Miotto et Holloway ont très récemment montré que le transfert de phosphate Cr-dépendant (utilisant la navette PCr/Cr et donc mi-CK) n'était pas indispensable à la contraction musculaire et à la fourniture en ADP à la mitochondrie. Ils expliquent ainsi que d'autres processus encore peu connus et sous-estimés permettraient l'augmentation du transport d'ADP vers la mitochondrie sans présence de mi-CK. Ces mécanismes compensatoires agiraient en augmentant la sensibilité des transporteurs membranaires à l'ADP (VDAC et ANT), permettant ainsi une maximisation du métabolisme aérobie en stimulant l'utilisation de la phosphorylation oxydative (Hood 2001, Miotto et Holloway 2016). L'augmentation de la sensibilité à l'ADP au niveau mitochondrial engendre en effet une augmentation de la dépendance au métabolisme aérobie et réduit l'utilisation de la glycolyse et la production de lactate (Dudley 1987, Miotto et Holloway 2016). Ainsi, cette augmentation de la sensibilité à l'ADP au niveau des transporteurs mitochondriaux (VDAC et ANT) stimulerait principalement l'utilisation de la phosphorylation oxydative aux dépens de la glycolyse. Cela favoriserait ainsi l'oxydation des acides gras et pourrait expliquer le pourcentage d'utilisation plus important du métabolisme oxydatif chez les souris miCK de 6 mois. Une augmentation du contenu mitochondrial et des enzymes intervenant dans le métabolisme aérobie a d'ailleurs été observée chez les souris miCK (Kaasik 2003, Vaarman 2008), bien que toutes les études ne soient pas en accord avec cela (Steeghs 1997, Veld 2005). Des futures mesures de l'activité de la carnitine, un co-facteur essentiel au transport des acides gras à longue chaîne du cytosol vers la mitochondrie pourrait apporter des éléments de réponse à cette hypothèse (Stephens et Galloway 2013).

Cependant, Veld et al. 2005 ont observé une diminution de la sensibilité à l'ADP au niveau des mitochondries de souris miCK, mais ces mesures étaient réalisées sans exercice (Veld 2005). Miotto et Holloway précisent que cette augmentation de la sensibilité à l'ADP n'est effective que lors d'exercice et non au repos, et que l'augmentation du travail des transporteurs VDAC et ANT ne s'activerait que lors d'exercice intense (Miotto et Holloway 2016). Cela pourrait ainsi expliquer pourquoi ces résultats ont été observés pour les tests à 25° d'inclinaison et non à 0° . Enfin, cette différence pour le temps passé à VO_{2max} entre les deux groupes s'estompe avec l'âge. Cela serait possiblement dû à la transition naturelle des fibres de type rapides vers les fibres de type lentes que l'on observe chez les souris saines

(groupe contrôle) au cours du vieillissement (Verdijk 2007, Mitchell 2012, Miljkovic 2015, Sayed 2016), engendrant une transition d'un métabolisme glycolytique vers un métabolisme plus oxydatif, ce qui coïnciderait avec la diminution des performances maximales observées à 18 mois.

L'atteinte plus rapide du VO_{2max} et le temps passé à VO_{2max} supérieur chez les souris miCK (principalement à 6 mois) pourrait indiquer que le métabolisme oxydatif atteint son fonctionnement maximal (« plein régime ») plus rapidement à l'exercice chez les souris miCK, dénotant encore une fois un possible métabolisme oxydatif majoritairement utilisé et plus rapidement stimulé lors d'exercice intense (25° d'inclinaison). Il se pourrait aussi que le métabolisme glycolytique soit moins stimulé du fait de la possible augmentation de la sensibilité à l'ADP expliquée précédemment (Miotto et Holloway 2016).

Paradoxalement, aucune différence pour le VO_{2max} atteint n'a été observée entre les deux groupes de souris à 6 et 9 mois, et c'est par ailleurs une baisse du VO_{2max} qui est observée chez les souris miCK à 18mois, sans toutefois être significativement différente des souris contrôles. Cette non-augmentation du VO_{2max} comparée aux souris contrôles n'est cependant pas incompatible avec une augmentation du métabolisme oxydatif chez les souris miCK, la disponibilité en oxygène n'étant pas forcément le facteur limitant du métabolisme oxydatif (Layec 2013) et de la performance (Fitzgerald 2016). Aucune corrélation entre la consommation maximale d'oxygène et la performance n'a d'ailleurs été trouvée.

Lactatémie :

Les résultats de lactatémie montrent une différence importante entre les deux groupes à 9 et 18 mois pour les tests à 0° d'inclinaison, notamment due à une augmentation de la lactatémie chez le groupe contrôle. Cette lactatémie mesurée 5 min post-exercice ne semble pas être la lactatémie maximale pouvant être atteinte chez le groupe 6 et 9 mois. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, la lactatémie maximale pouvant être atteinte diminue avec l'âge (Izquierdo 2001, Hepple 2003, Korhonen 2005, Masuda 2009). Or, nous remarquons une augmentation de la lactatémie chez le groupe contrôle avec l'âge. Cela laisse à penser que la lactatémie n'est pas un facteur limitant chez les souris contrôles de 6 et 9 mois à 0° d'inclinaison. En revanche, nous avons aussi vu que pour une même intensité absolue d'exercice, les sujets âgés accumulaient plus de lactate sanguin, car stimulaient plus rapidement la glycolyse (Fitts 1984, Izquierdo 2001). Cela serait en accord avec nos travaux montrant que même si l'intensité maximale atteinte n'a pas été modifiée entre 6 et 9 mois, la lactatémie à cette intensité a augmenté. Il en est de même pour les souris contrôles de 18 mois dont

l'intensité maximale atteinte est inférieure à celle de 6 et 9 mois mais avec une lactatémie supérieure, montrant une utilisation plus importante de la glycolyse pour les souris contrôles à 9 et 18 mois.

Concernant les souris miCK, aucune différence n'a été trouvée entre les différents groupes d'âge, suggérant une évolution différente avec le vieillissement quant à l'accumulation de lactate et l'utilisation de la glycolyse anaérobie. Encore une fois, cette accumulation de lactate sanguin moins importante chez les souris miCK pourrait suggérer une utilisation moins importante du métabolisme anaérobie au profit du métabolisme aérobie (Marsh 1999, Izquierdo 2001, Masuda 2009), les performances ayant été maintenues chez les souris miCK comparées aux souris contrôles. Cela concorde avec notre précédente analyse suggérant une stimulation plus importante de la phosphorylation oxydative aux dépens de la glycolyse chez les souris miCK. Une autre possibilité pourrait être que le lactate formé serait plus rapidement utilisé comme substrat dans les fibres de type oxydatives grâce à une augmentation du nombre de transporteur MCT1 ou du ratio LDH-H/LDH-M comme il a été observé chez les souris Double-KO (Momken 2005), suggérant là aussi un métabolisme oxydatif dominant. LDH-H étant l'isoforme de la lactate déshydrogénase utilisant le lactate comme source d'énergie pour le métabolisme aérobie, tandis que l'isoforme LDH-M forme le lactate lors de la glycolyse anaérobie.

Le poids pourrait être un facteur à prendre en compte. Celui-ci suit en effet la même cinétique d'augmentation que la lactatémie avec l'âge chez les souris contrôles et miCK. La corrélation entre ces deux paramètres n'exprime pas forcément une cause à effet, mais il est à prendre en considération. Il est ainsi possible que le poids des souris contrôles augmentant (sans toutefois augmenter leur masse musculaire), engendrerait un travail plus important en intensité pour ces souris avec l'avancée de l'âge, ce qui ne serait pas le cas pour les souris miCK gardant un ratio masse grasse/masse musculaire égal à tout âge, tout comme leur lactatémie. Cependant ce résultat n'a pas été retrouvé pour le test à 25°. En effet, aucune différence n'a été observée entre les groupes pour le test à 25° d'inclinaison, suggérant que l'intensité plus élevée de cet exercice augmente de façon plus importante l'accumulation de lactate chez les jeunes souris contrôles atteignant ainsi leur possible lactatémie maximale à 6 et 9 mois. Il en serait de même avec les souris miCK n'ayant plus de différence avec les souris contrôles.

6. Conclusion et perspectives

Finalement, les résultats de cette étude montrent que l'homéostasie énergétique est maintenue chez les souris miCK, pour les intensités modérées comme pour les intensités élevées d'exercice, et cela même au cours du vieillissement. Alors que cette mutation mitochondriale, altérant les mécanismes de fourniture énergétique par la mitochondrie, aurait pu induire une utilisation accentuée du métabolisme glycolytique, les résultats observés sont tout autres. Il semblerait en effet qu'il y ait une plus importante utilisation du métabolisme oxydatif chez les souris miCK à tout âge, limitant le gain de masse grasse au cours du vieillissement et diminuant l'accumulation de lactatémie. Cependant, aucune observation de transition d'une typologie musculaire des fibres rapides vers les fibres lentes n'a encore été observée chez les souris miCK (Steeghs 1998). De plus, bien que le métabolisme oxydatif semble plus utilisé chez les souris miCK, le VO_{2max} n'augmente pas et va même jusqu'à diminuer avec l'âge.

Pour la première fois, les capacités physiques et physiologiques de souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale ont été mesurées au cours du vieillissement, mais de nombreuses analyses sont nécessaires afin d'évaluer au mieux les adaptations observées et d'en comprendre les mécanismes responsables.

Afin de détecter une possible transition du métabolisme glycolytique vers un métabolisme oxydatif, il semble nécessaire de réaliser des analyses sur le contenu mitochondrial (citrate synthase), le fonctionnement qualitatif de la respiration mitochondriale (ROS et activité des différents complexes), l'expression des différents isotopes de LDH et des transporteurs de lactate MCT, ainsi que sur la typologie musculaire. L'étude des transporteurs mitochondriaux ANT et VDAC et de l'influence des autres voies de transfert d'énergie (telle que la navette AK) apporterait aussi des réponses, ces mécanismes étant récemment montrés comme des possibles voies de remplacement en cas d'inhibition de la navette PCr-Cr pour les transferts énergétiques (Dzeja 2011, Yaniv 2013, Miotto et Holloway 2016). De même, il serait utile d'étudier l'architecture cellulaire, afin de déterminer s'il existe un rapprochement des mitochondries vers les sites d'utilisation de l'énergie, comme ce qui est observé chez les Double-KO et les MMCK (Kaasik 2003, Novotova 2006, Wallimann 2015), ou un rapprochement de l'isoforme cytosolique de la créatine kinase (MM-CK) vers la membrane extérieure de la mitochondrie (Boehm 1998). Enfin, les analyses métabolomiques qui sont actuellement en cours nous offriront des informations supplémentaires sur l'ensemble de l'organisme (catabolisme, anabolisme...).

III. DISCUSSION GENERALE

Le vieillissement est accompagné de nombreuses modifications physiologiques et biologiques menant notamment à une diminution des capacités physiques et rendant l'individu âgé davantage dépendant. Cette baisse d'autonomie est devenue un important enjeu de santé publique et les recherches se portent aujourd'hui majoritairement vers une amélioration de l'espérance de vie sans incapacité plutôt que vers une augmentation de la durée maximale de vie. Dans ce contexte, l'activité physique est utilisée comme moyen pour compenser le déclin des performances physiques avec l'âge, mais est aussi, depuis peu (loi santé de mars 2017), considérée comme solution thérapeutique non médicamenteuse face à certaines maladies de longues durées (diabète, cancer, la sclérose en plaque, AVC invalidant...). Cependant, l'efficacité de l'activité physique face au déclin de l'organisme vieillissant dépend de chaque individu et du contenu des protocoles d'entraînement.

Concernant le vieillissement, il est difficile de mettre en place des protocoles d'entraînement adaptés, du fait des nombreux paradoxes existants. En effet, la sarcopénie, qui est la diminution de la masse et de la force musculaire avec l'âge, pourrait en partie être compensée par des entraînements en force/résistance efficaces dans ce domaine, mais ceux-ci, utilisant des charges de masse importante, peuvent être traumatisants pour les articulations. De la même façon, les entraînements en endurance pourraient être un bon moyen de faire face aux maladies cardiovasculaires et d'améliorer les capacités oxydatives musculaires ainsi que le VO₂max, mais ne stimuleraient pas, voir inhiberaient la prise de masse musculaire, et serait sur beaucoup de points, moins efficient que des entraînements utilisant des intensités d'exercice plus élevées. Face à ces constats, des entraînements en endurance utilisant de hautes intensités d'exercice ont été testés et ont fait leurs preuves chez les sportifs et les sujets jeunes à adultes. Ils se nomment « entraînements en intervalles ou HIIT (High Intensity Interval Training) ». Ces entraînements semblent effectivement plus efficaces que les entraînements en endurance continus et permettraient une possible hypertrophie musculaire. Néanmoins, ils se basent sur des atteintes de vitesses/puissances élevées sur un temps très court, les rendant peu adaptés aux personnes âgées.

La recherche se devait donc d'explorer la possibilité d'élaborer un protocole d'entraînement physique alternatif qui exploite au mieux les avantages des entraînements en endurance et des entraînements en intensité tout en minimisant leurs effets négatifs respectifs. Le but recherché étant toujours le même : augmenter la qualité de vie des sujets âgés par une action globale au niveau des métabolismes énergétiques.

Cette thèse apporte sa contribution à cette recherche au travers d'une recherche bibliographique et de travaux expérimentaux.

La première partie de ces travaux expérimentaux visent à mieux connaître les effets d'un nouveau protocole d'entraînement basé sur l'accélération chez les souris âgées. Le choix du modèle souris répond à la nécessité de procéder à des tests de performance physique et physiologique assortis d'analyses invasives. Quant au choix de l'entraînement en accélération, il résulte du constat que les variations de vitesse/puissance permettent des adaptations métaboliques variées, et que les vitesses maximales sont atteintes progressivement au cours des exercices tout en étant fixées par les capacités du sujet. Les deux études de notre laboratoire (**Article 1 et 3**) apportent des conclusions positives quant à l'utilité de ce programme d'entraînement en accélération. En effet, en plus d'une amélioration importante des performances, ce type d'entraînement permettrait de stimuler l'ensemble des métabolismes aérobie et anaérobie, et cela avec un volume d'entraînement très faible. Cinq séances d'entraînement en accélération ont à elles seules amélioré les performances des souris âgées d'un point de vue physiologique et intégratif. De plus, il semblerait qu'avec un temps d'entraînement plus long (8 semaines), les adaptations cardio-respiratoires et l'augmentation de la masse musculaire, que nous avons suggéré dans cette première étude, soient vérifiées par l'article de Launay et al 2017 (**Article 3**). Et bien que 8 semaines d'entraînement rejoignent les temps d'entraînement longs actuellement existants, les sessions d'exercice ne se réalisent que 2 fois par semaine, ce qui réduit considérablement la pénibilité du travail et augmente le temps de récupération, paramètres importants chez les sujets âgés. Par ailleurs, l'efficacité de ce type d'entraînement est accentuée par le protocole lui-même qui est moins brusque et moins traumatisant que les protocoles en intervalle et en force et plus motivant que les entraînements continus en endurance.

Toutefois, la comparaison entre deux protocoles d'entraînement non équivalents en termes de charge de travail reste délicate. A notre décharge, le protocole d'entraînement en endurance en continu ne pouvait s'effectuer sur moins de 4 semaines qui est la durée minimale pour espérer voir les effets de ce type d'entraînement et un temps d'entraînement plus long (pour le groupe endurance) aurait engendré une différence d'âge trop importante entre les souris des différents groupes. Par ailleurs, l'objectif de cette étude étant de vérifier l'hypothèse selon laquelle l'entraînement en accélération était bénéfique sur un très court terme (moins de 2 semaines avec très peu de séances par semaine), il n'était pas envisageable de porter le temps d'entraînement en accélération à plus de 2 semaines. Mais rappelons que des tests triangulaires ont quand même été réalisés après 2 semaines d'entraînement chez le groupe endurance permettant ainsi de noter que des différences physiques et physiologiques étaient déjà présentes à ce moment.

Dans un deuxième temps, au vu de nos résultats concernant la créatine kinase et l'adénylate kinase (activités enzymatiques plus élevées chez les souris entraînées en accélération) et devant l'importance du rôle joué par les flux énergétiques lors des exercices et au cours du vieillissement,

nous nous sommes intéressés aux voies de transfert de l'énergie. En effet, les différentes voies de phosphotransfert relient les différents métabolismes les uns aux autres, régulant et impactant l'homéostasie énergétique en cas de délétion ou de dégradation. La principale voie utilisée à l'exercice et lors de la récupération est celle faisant intervenir la créatine kinase mitochondriale. Malheureusement, il n'existe à ce jour que peu de recherche et trop peu de consensus concernant l'évolution de cette enzyme avec l'âge et l'impact de son altération sur l'organisme. Nos résultats, obtenus par tests triangulaires sur tapis roulant aux âges de 6, 9 et 18 mois, bien qu'encore incomplets, suggèrent que le métabolisme oxydatif est majoritairement utilisé chez les souris déficientes à la mi-CK, que ce soit lors de l'exercice (lactatémie diminuée, temps passé à VO_{2max} augmenté) ou au niveau anatomique (masse grasseuse moins importante). Une utilisation majoritaire du métabolisme lipidique chez les souris miCK serait une explication plausible à la plupart des résultats que nous avons obtenus, et qui se traduisent par la stabilité du poids au cours du vieillissement et une diminution de l'utilisation du métabolisme glycolytique. Des tests basés sur les performances anaérobies ou sur la force pourraient nous aider à compléter ces observations. Quoi qu'il en soit, ces résultats indiquent des adaptabilités de l'organisme en réponse à l'altération des navettes PCr/CK, leurs activités semblant elles-mêmes diminuées naturellement avec l'âge et pouvant être une cause de la perte des capacités physiques pour les activités intenses chez les personnes âgées et réduisant ainsi leur autonomie.

La compréhension des mécanismes régissant les flux énergétiques et de leur importance sur les capacités physiques au cours du vieillissement permettrait de mieux concevoir les futurs protocoles d'entraînement, aujourd'hui considérés comme outils thérapeutiques, notamment chez les personnes âgées ou malades.

IV. PERSPECTIVES

De nombreuses questions restent en suspens et de nombreuses ouvertures sont possibles suites à ces recherches. La priorité se portera en premier lieu sur les analyses complémentaires que suggèrent notre deuxième étude portant sur les souris miCK. En effet, bon nombre d'hypothèses ont été avancées, telles qu'une transition d'un métabolisme glycolytique vers un métabolisme plus oxydatif, avec une augmentation de la sensibilité à l'ADP, une augmentation des transporteurs MCT1, une transition phénotypique, ou encore un rapprochement des mitochondries vers les sites d'utilisations de l'énergie. Analyser la typologie musculaire, mesurer l'activité enzymatique de la citrate synthase ou des différents isoformes de lactate déshydrogénase (LDH-H et LDH-M) ainsi que l'étude de l'activité des transporteurs MCT, ANT ou VDAC ou de la carnitine permettrait d'apporter

certaines éléments de réponse à nos hypothèses. De même, les analyses métabolomiques des urines et du sang récoltées seront réalisées très prochainement, apportant de nombreux et divers indices sur les différences d'activité métabolique. Enfin, il faudra compléter les données manquantes concernant les souris femelles (sauvages uniquement) et les analyser afin de les comparer aux résultats fournis par les souris mâles.

En termes de protocole, plusieurs modifications peuvent être apportées/testées. Dans le cas de l'étude sur l'entraînement en accélération, une comparaison avec un entraînement en force/résistance pourrait être intéressante afin d'évaluer la capacité de ce nouveau type d'entraînement basé sur l'accélération, à augmenter la masse et la force musculaire. De même, une modification des intensités d'accélération permettrait d'évaluer si la plus importante amélioration des performances lors de l'entraînement s'effectue toujours sur la seconde accélération (accélération modérée, ici $6 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$). D'autre part, si l'accélération semble efficace, qu'en est-il de l'exercice de décélération ?

In fine, l'objectif étant d'utiliser ce programme chez des personnes âgées, il ne faut pas perdre de vue son expérimentation sur l'être humain.

Toujours au niveau du protocole, mais en rapport cette fois avec l'étude sur les souris miCK, il serait intéressant de tester ces souris sur divers protocoles d'entraînement, tels que l'accélération ou l'entraînement en force, afin d'évaluer en termes de performance si notre raisonnement concernant la transition du métabolisme glycolytique vers oxydatif est correct. Une étude sur la récupération post-exercice chez les souris miCK pourrait aussi apporter de nombreuses réponses, la navette PCr/CK étant normalement très active en phase de récupération.

Enfin, un point très important, qui a été soulevé dans la première étude mais très peu détaillé par manque de mesures, est l'analyse du stress oxydant. Celui-ci étant au cœur des théories du vieillissement, il doit à l'avenir être un paramètre étudié, tant au niveau de l'activité des ROS que des antioxydants.

REFERENCES

- Aliev, M., Guzun, R., Karu-Varikmaa, M., Kaambre, T., Wallimann, T., & Saks, V. (2011). Molecular system bioenergetics of the heart: experimental studies of metabolic compartmentation and energy fluxes versus computer modeling. *International Journal of Molecular Sciences*, *12*(12), 9296–9331. <https://doi.org/10.3390/ijms12129296>
- Amara, C. E., Shankland, E. G., Jubrias, S. A., Marcinek, D. J., Kushmerick, M. J., & Conley, K. E. (2007). Mild mitochondrial uncoupling impacts cellular aging in human muscles in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(3), 1057–1062. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610131104>
- Andersen, H. R., Nielsen, J. B., Nielsen, F., & Grandjean, P. (1997). Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, *43*(4), 562–568.
- Arem, H., Moore, S. C., Patel, A., Hartge, P., de Gonzalez, A. B., Visvanathan, K., ... Matthews, C. E. (2015). Leisure Time Physical Activity and Mortality: A Detailed Pooled Analysis of the Dose-Response Relationship. *JAMA Internal Medicine*, *175*(6), 959–967. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.0533>
- Astrand, P. O., & Ryhming, I. (1954). A nomogram for calculation of aerobic capacity (physical fitness) from pulse rate during sub-maximal work. *Journal of Applied Physiology*, *7*(2), 218–221.
- Atherton, P. J., Babraj, J., Smith, K., Singh, J., Rennie, M. J., & Wackerhage, H. (2005). Selective activation of AMPK-PGC-1 α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *19*(7), 786–788. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2179fje>
- Ayachi, M., Niel, R., Momken, I., Billat, V. L., & Mille-Hamard, L. (2016). Validation of a Ramp Running Protocol for Determination of the True VO₂max in Mice. *Frontiers in Physiology*, *7*, 372. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00372>
- Bacon, A. P., Carter, R. E., Ogle, E. A., & Joyner, M. J. (2013). VO₂max trainability and high intensity interval training in humans: a meta-analysis. *PloS One*, *8*(9), e73182. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073182>
- Bailey, D. M., McEneny, J., Mathieu-Costello, O., Henry, R. R., James, P. E., McCord, J. M., ... Richardson, R. S. (2010). Sedentary aging increases resting and exercise-induced intramuscular free radical formation. *Journal of Applied Physiology*, *109*(2), 449–456. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00354.2010>
- Bak, M. I., Wei, J. Y., & Ingwall, J. S. (1998). Interaction of hypoxia and aging in the heart: analysis of high energy phosphate content. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *30*(3), 661–672. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1997.0633>
- Balaban, R. S., Nemoto, S., & Finkel, T. (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, *120*(4), 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.001>

- Balagopal, P., Schimke, J. C., Ades, P., Adey, D., & Nair, K. S. (2001). Age effect on transcript levels and synthesis rate of muscle MHC and response to resistance exercise. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 280(2), E203-208.
- Baldwin, K. M., Cooke, D. A., & Cheadle, W. G. (1977). Time course adaptations in cardiac and skeletal muscle to different running programs. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 42(2), 267–272.
- Bárány, M. (1967). ATPase Activity of Myosin Correlated with Speed of Muscle Shortening. *The Journal of General Physiology*, 50(6), 197–218.
- Bassett, D. R., & Howley, E. T. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(1), 70–84.
- Benetos, A., Thomas, F., Bean, K. E., Pannier, B., & Guize, L. (2005). Role of modifiable risk factors in life expectancy in the elderly. *Journal of Hypertension*, 23(10), 1803–1808.
- Betik, A. C., Baker, D. J., Krause, D. J., McConkey, M. J., & Hepple, R. T. (2008). Exercise training in late middle-aged male Fischer 344 x Brown Norway F1-hybrid rats improves skeletal muscle aerobic function. *Experimental Physiology*, 93(7), 863–871. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.042069>
- Betik, A. C., Thomas, M. M., Wright, K. J., Riel, C. D., & Hepple, R. T. (2009). Exercise training from late middle age until senescence does not attenuate the declines in skeletal muscle aerobic function. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297(3), R744-755. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90959.2008>
- Bigard, A. X., Mateo, P., Sanchez, H., Serrurier, B., & Ventura-Clapier, R. (2000). Lack of coordinated changes in metabolic enzymes and myosin heavy chain isoforms in regenerated muscles of trained rats. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 21(3), 269–278.
- Bigard, A.-X., Sanchez, H., & Koulmann, N. (2007). Modulations du génome exprimé dans le muscle squelettique avec l'entraînement physique. *Science & Sports*, 22(6), 267–279. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2007.10.006>
- Billat, V., Dhonneur, G., Mille-Hamard, L., Le Moyec, L., Momken, I., Launay, T., ... Besse, S. (2017). Case Studies in Physiology: Maximal oxygen consumption and performance in a centenarian cyclist. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 122(3), 430–434. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00569.2016>
- Billat, V. L. (2001). Very Short (15 s-15 s) Interval-Training Around the Critical Velocity Allows Middle-Aged Runners to Maintain VO₂ max for 14 minutes. *International journal of.pdf.* (n.d.).
- Billat, V., Petot, H., Karp, J. R., Sarre, G., Morton, R. H., & Mille-Hamard, L. (2013). The sustainability of VO₂max: effect of decreasing the workload. *European Journal of Applied Physiology*, 113(2), 385–394. <https://doi.org/10.1007/s00421-012-2424-7>

- Birot, O., & Bigard, A. X. (2003). Réponses du réseau capillaire du muscle squelettique à l'entraînement. *Science & sports*, 18(1), 1-10. pdf. (n.d.).
- Bo, H., Wang, Y.-H., Li, H.-Y., Zhao, J., Zhang, H.-Y., & Tong, C.-Q. (2008). Endurance training attenuates the bioenergetics alterations of rat skeletal muscle mitochondria submitted to acute hypoxia: role of ROS and UCP3. *Sheng Li Xue Bao: [Acta Physiologica Sinica]*, 60(6), 767–776.
- Bodyak, N., Kang, P. M., Hiromura, M., Suljoadikusumo, I., Horikoshi, N., Khrapko, K., & Usheva, A. (2002). Gene expression profiling of the aging mouse cardiac myocytes. *Nucleic Acids Research*, 30(17), 3788–3794.
- Boehm, E., Veksler, V., Mateo, P., Lenoble, C., Wieringa, B., & Ventura-Clapier, R. (1998). Maintained Coupling of Oxidative Phosphorylation to Creatine Kinase Activity in Sarcomeric Mitochondrial Creatine Kinase-deficient Mice. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 30(5), 901–912. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0692>
- Bokov, A., Chaudhuri, A., & Richardson, A. (2004). The role of oxidative damage and stress in aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 125(10–11), 811–826. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.07.009>
- Bonen, A. (2001). The expression of lactate transporters (MCT1 and MCT4) in heart and muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 86(1), 6–11. <https://doi.org/10.1007/s004210100516>
- Bongbele, J. (1990). L'ATP et la fatigue musculaire pendant l'exercice. *Science & Sports*, 5(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0765-1597\(05\)80240-0](https://doi.org/10.1016/S0765-1597(05)80240-0)
- Booth, F. W., Weeden, S. H., & Tseng, B. S. (1994). Effect of aging on human skeletal muscle and motor function. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(5), 556–560.
- Borg, T. K., & Caulfield, J. B. (1980). Morphology of connective tissue in skeletal muscle. *Tissue & Cell*, 12(1), 197–207.
- Bori, Z., Zhao, Z., Koltai, E., Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Douroudos, I. I., ... Radak, Z. (2012). The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. *Experimental Gerontology*, 47(6), 417–424. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.03.004>
- Bossy-Wetzel, E., Barsoum, M. J., Godzik, A., Schwarzenbacher, R., & Lipton, S. A. (2003). Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging. *Current Opinion in Cell Biology*, 15(6), 706–716.
- Brand, M. D. (2010). The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Experimental Gerontology*, 45(7–8), 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.01.003>
- Brass, E. P., Scarrow, A. M., Ruff, L. J., Masterson, K. A., & Van Lunteren, E. (1993). Carnitine delays rat skeletal muscle fatigue in vitro. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 75(4), 1595–1600.

- Bratic, I., & Trifunovic, A. (2010). Mitochondrial energy metabolism and ageing. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1797(6), 961–967. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.01.004>
- Brook, M. S., Wilkinson, D. J., Phillips, B. E., Perez-Schindler, J., Philp, A., Smith, K., & Atherton, P. J. (2016). Skeletal muscle homeostasis and plasticity in youth and ageing: impact of nutrition and exercise. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 216(1), 15–41. <https://doi.org/10.1111/apha.12532>
- Brooks, G. A. (1986). The lactate shuttle during exercise and recovery. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 18(3), 360–368.
- Brooks, G. A. (2002). Lactate shuttles in nature. *Biochemical Society Transactions*, 30(2), 258–264. <https://doi.org/10.1042/>
- Brooks, G. A., Fahey, T. D., & White, T. P. (1996). Exercise physiology - Human bioenergetics and its applications (No. Ed. 2). Mayfield publishing company..pdf. (n.d.).
- Brooks, S. V., Vasilaki, A., Larkin, L. M., McArdle, A., & Jackson, M. J. (2008). Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor κB activation. *The Journal of Physiology*, 586(Pt 16), 3979–3990. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.155382>
- Butler-Browne, G., & Bigard, A. X. (2006). Caractéristiques du vieillissement musculaire et effets préventifs de l'exercice régulier. *Science & sports*, 21(4), 184-193..pdf. (n.d.).
- Cadore, E. L., Pinto, R. S., Bottaro, M., & Izquierdo, M. (2014). Strength and Endurance Training Prescription in Healthy and Frail Elderly. *Aging and Disease*, 5(3), 183–195. <https://doi.org/10.14336/AD.2014.0500183>
- Capel, F., Buffière, C., Patureau Mirand, P., & Mosoni, L. (2004). Differential variation of mitochondrial H₂O₂ release during aging in oxidative and glycolytic muscles in rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 125(5), 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.02.005>
- Capitano, D., Vasso, M., Fania, C., Moriggi, M., Viganò, A., Procacci, P., ... Gelfi, C. (2009). Comparative proteomic profile of rat sciatic nerve and gastrocnemius muscle tissues in ageing by 2-D DIGE. *Proteomics*, 9(7), 2004–2020. <https://doi.org/10.1002/pmic.200701162>
- Carmeli, E., Coleman, R., & Reznick, A. Z. (2002). The biochemistry of aging muscle. *Experimental Gerontology*, 37(4), 477–489.
- Cartee, G. D. (1994). Influence of age on skeletal muscle glucose transport and glycogen metabolism. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(5), 577–585.
- Cartee, G. D., & Farrar, R. P. (1987). Muscle respiratory capacity and VO₂ max in identically trained young and old rats. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 63(1), 257–261.

- Cazorla, G., Petibois, C., Bosquet, L., Léger, L. (2001). Lactate et exercice - mythes et réalités. *Rev Sci Tech Activ Phys Sport (Grenoble)*, 22(54), 63-76..pdf. (n.d.).
- Chabi, B., Ljubicic, V., Menzies, K. J., Huang, J. H., Saleem, A., & Hood, D. A. (2008). Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle. *Aging Cell*, 7(1), 2–12. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2007.00347.x>
- Churchward-Venne, T. A., Tieland, M., Verdijk, L. B., Leenders, M., Dirks, M. L., de Groot, L. C. P. G. M., & van Loon, L. J. C. (2015). There Are No Nonresponders to Resistance-Type Exercise Training in Older Men and Women. *Journal of the American Medical Directors Association*, 16(5), 400–411. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2015.01.071>
- Clark, B. C., & Manini, T. M. (2012). What is dynapenia? *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 28(5), 495–503. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.12.002>
- Coggan, A. R., Spina, R. J., King, D. S., Rogers, M. A., Brown, M., Nemeth, P. M., & Holloszy, J. O. (1992). Histochemical and enzymatic comparison of the gastrocnemius muscle of young and elderly men and women. *Journal of Gerontology*, 47(3), B71-76.
- Conley, K. E., Jubrias, S. A., & Esselman, P. C. (2000). Oxidative capacity and ageing in human muscle. *The Journal of Physiology*, 526(Pt 1), 203–210. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00203.x>
- Cornachione, A. S., Benedini-Elias, P. C. O., Polizello, J. C., Carvalho, L. C., & Mattiello-Sverzut, A. C. (2011). Characterization of Fiber Types in Different Muscles of the Hindlimb in Female Weanling and Adult Wistar Rats. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 44(2), 43–50. <https://doi.org/10.1267/ahc.10031>
- Correia-Melo, C., Marques, F. D. M., Anderson, R., Hewitt, G., Hewitt, R., Cole, J., ... Passos, J. F. (2016). Mitochondria are required for pro-ageing features of the senescent phenotype. *The EMBO Journal*, 35(7), 724–742. <https://doi.org/10.15252/embj.201592862>
- Cox, P. J., & Clarke, K. (2014). Acute nutritional ketosis: implications for exercise performance and metabolism. *Extreme Physiology & Medicine*, 3, 17. <https://doi.org/10.1186/2046-7648-3-17>
- Dai, D.-F., & Rabinovitch, P. S. (2009). Cardiac Aging in Mice and Humans: the Role of Mitochondrial Oxidative Stress. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 19(7), 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2009.12.004>
- de Jaeger, C., & Cherin, P. (2011). Les théories du vieillissement. *Médecine & Longévité*, 3(4), 155–174. <https://doi.org/10.1016/j.mlong.2011.10.001>
- Delaglio, F., Grzesiek, S., Vuister, G. W., Zhu, G., Pfeifer, J., & Bax, A. (1995). NMRPipe: a multidimensional spectral processing system based on UNIX pipes. *Journal of Biomolecular NMR*, 6(3), 277–293.
- Dogra, S., Spencer, M. D., & Paterson, D. H. (2012). Higher Cardiorespiratory Fitness in Older Trained

- Women is Due to Preserved Stroke Volume. *Journal of Sports Science & Medicine*, 11(4), 745–750.
- Dong, X., Milholland, B., & Vijg, J. (2016). Evidence for a limit to human lifespan. *Nature*, 538(7624), 257–259. <https://doi.org/10.1038/nature19793>
- Doran, P., O'Connell, K., Gannon, J., Kavanagh, M., & Ohlendieck, K. (2008). Opposite pathobiochemical fate of pyruvate kinase and adenylate kinase in aged rat skeletal muscle as revealed by proteomic DIGE analysis. *Proteomics*, 8(2), 364–377. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700475>
- Drew, B., Phaneuf, S., Dirks, A., Selman, C., Gredilla, R., Lezza, A., ... Leeuwenburgh, C. (2003). Effects of aging and caloric restriction on mitochondrial energy production in gastrocnemius muscle and heart. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284(2), R474-480. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00455.2002>
- Drummond, M. J., Miyazaki, M., Dreyer, H. C., Pennings, B., Dhanani, S., Volpi, E., ... Rasmussen, B. B. (2009). Expression of growth-related genes in young and older human skeletal muscle following an acute stimulation of protein synthesis. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 106(4), 1403–1411. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90842.2008>
- Duchateau, J., Nicol, C., & Baudry, S. (2014). Le vieillissement du système neuromusculaire : de la sarcopénie à la dynapénie. *Kinésithérapie, La Revue*, 14(145), 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.kine.2013.09.010>
- Dudley, G. A., Tullson, P. C., & Terjung, R. L. (1987). Influence of mitochondrial content on the sensitivity of respiratory control. *The Journal of Biological Chemistry*, 262(19), 9109–9114.
- Dzeja, P. P., Zeleznikar, R. J., & Goldberg, N. D. (1996). Suppression of creatine kinase-catalyzed phosphotransfer results in increased phosphoryl transfer by adenylate kinase in intact skeletal muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(22), 12847–12851.
- Dzeja, Petras P., Hoyer, K., Tian, R., Zhang, S., Nemutlu, E., Spindler, M., & Ingwall, J. S. (2011). Rearrangement of energetic and substrate utilization networks compensate for chronic myocardial creatine kinase deficiency. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 21), 5193–5211. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.212829>
- Dzeja, Petras P., & Terzic, A. (2003). Phosphotransfer networks and cellular energetics. *The Journal of Experimental Biology*, 206(Pt 12), 2039–2047.
- Dzeja, Petras P., Terzic, A., & Wieringa, B. (2004). Phosphotransfer dynamics in skeletal muscle from creatine kinase gene-deleted mice. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 256–257(1–2), 13–27.
- Edström, E., Altun, M., Bergman, E., Johnson, H., Kullberg, S., Ramírez-León, V., & Ulfhake, B. (2007). Factors contributing to neuromuscular impairment and sarcopenia during aging. *Physiology & Behavior*, 92(1–2), 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.05.040>

- Evans, W. J. (1999). Exercise training guidelines for the elderly. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 31(1), 12–17.
- Figueiredo, Pedro A., Powers, S. K., Ferreira, R. M., Amado, F., Appell, H. J., & Duarte, J. A. (2009). Impact of lifelong sedentary behavior on mitochondrial function of mice skeletal muscle. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 64(9), 927–939. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp066>
- Figueiredo, Pedro A., Powers, S. K., Ferreira, R. M., Appell, H. J., & Duarte, J. A. (2009). Aging impairs skeletal muscle mitochondrial bioenergetic function. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 64(1), 21–33. <https://doi.org/10.1093/gerona/gln048>
- Figueiredo, Pedro Alexandre, Mota, M. P., Appell, H. J., & Duarte, J. A. (2008). The role of mitochondria in aging of skeletal muscle. *Biogerontology*, 9(2), 67–84. <https://doi.org/10.1007/s10522-007-9121-7>
- FISSAC. (2017, February 22). VO2max World Records. Retrieved June 6, 2017, from <http://www.fissac.com/vo2max-world-records/>
- Fitts, R. H., Troup, J. P., Witzmann, F. A., & Holloszy, J. O. (1984). The effect of ageing and exercise on skeletal muscle function. *Mechanisms of Ageing and Development*, 27(2), 161–172.
- Fitzgerald, L. F., Christie, A. D., & Kent, J. A. (2016). Heterogeneous effects of old age on human muscle oxidative capacity in vivo: a systematic review and meta-analysis. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 41(11), 1137–1145. <https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0195>
- Flack, K. D., Davy, K. P., Hulver, M. W., Winett, R. A., Frisard, M. I., & Davy, B. M. (2010). Aging, resistance training, and diabetes prevention. *Journal of Aging Research*, 2011, 127315. <https://doi.org/10.4061/2011/127315>
- Fleg, J. L., O'Connor, F., Gerstenblith, G., Becker, L. C., Clulow, J., Schulman, S. P., & Lakatta, E. G. (1995). Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 78(3), 890–900.
- Fleg, Jerome L., Morrell, C. H., Bos, A. G., Brant, L. J., Talbot, L. A., Wright, J. G., & Lakatta, E. G. (2005). Accelerated longitudinal decline of aerobic capacity in healthy older adults. *Circulation*, 112(5), 674–682. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.545459>
- Flück, M. (2006). Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *The Journal of Experimental Biology*, 209(Pt 12), 2239–2248. <https://doi.org/10.1242/jeb.02149>
- Flurkey, K., Curren, J. M., & Harrison, D. E. (2007). Mouse models in aging research..pdf. (n.d.).
- Foretz, M. (2006). Régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK-Une nouvelle voie

thérapeutique pour le traitement des maladies métaboliques et cardiaques. médecine-scienc.pdf. (n.d.).

- Fried, L. P., Kronmal, R. A., Newman, A. B., Bild, D. E., Mittelmark, M. B., Polak, J. F., ... Gardin, J. M. (1998). Risk factors for 5-year mortality in older adults: the Cardiovascular Health Study. *JAMA*, *279*(8), 585–592.
- Fulle, S., Protasi, F., Di Tano, G., Pietrangelo, T., Beltramin, A., Boncompagni, S., ... Fanò, G. (2004). The contribution of reactive oxygen species to sarcopenia and muscle ageing. *Experimental Gerontology*, *39*(1), 17–24.
- Garber, C. E., Blissmer, B., Deschenes, M. R., Franklin, B. A., Lamonte, M. J., Lee, I.-M., ... American College of Sports Medicine. (2011). American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *43*(7), 1334–1359. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318213fefb>
- Garcia, C. K., Goldstein, J. L., Pathak, R. K., Anderson, R. G., & Brown, M. S. (1994). Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. *Cell*, *76*(5), 865–873.
- Gebel, K., Ding, D., Chey, T., Stamatakis, E., Brown, W. J., & Bauman, A. E. (2015). Effect of Moderate to Vigorous Physical Activity on All-Cause Mortality in Middle-aged and Older Australians. *JAMA Internal Medicine*, *175*(6), 970–977. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.0541>
- Gelfi, C., Vigano, A., Ripamonti, M., Pontoglio, A., Begum, S., Pellegrino, M. A., ... Cerretelli, P. (2006). The human muscle proteome in aging. *Journal of Proteome Research*, *5*(6), 1344–1353. <https://doi.org/10.1021/pr050414x>
- Gellish, R. L., Goslin, B. R., Olson, R. E., McDonald, A., Russi, G. D., & Moudgil, V. K. (2007). Longitudinal modeling of the relationship between age and maximal heart rate. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *39*(5), 822–829. <https://doi.org/10.1097/mss.0b013e31803349c6>
- Ghosh, S., Lertwattanak, R., Lefort, N., Molina-Carrion, M., Joya-Galeana, J., Bowen, B. P., ... Musi, N. (2011). Reduction in Reactive Oxygen Species Production by Mitochondria From Elderly Subjects With Normal and Impaired Glucose Tolerance. *Diabetes*, *60*(8), 2051–2060. <https://doi.org/10.2337/db11-0121>
- Giada, F., Bertaglia, E., De Piccoli, B., Franceschi, M., Sartori, F., Raviele, A., & Pascotto, P. (1998). Cardiovascular adaptations to endurance training and detraining in young and older athletes. *International Journal of Cardiology*, *65*(2), 149–155.
- Gianni, P., Jan, K. J., Douglas, M. J., Stuart, P. M., & Tarnopolsky, M. A. (2004). Oxidative stress and the mitochondrial theory of aging in human skeletal muscle. *Experimental Gerontology*, *39*(9), 1391–1400. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.06.002>

- Gibala, M. J., Little, J. P., van Essen, M., Wilkin, G. P., Burgomaster, K. A., Safdar, A., ... Tarnopolsky, M. A. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *The Journal of Physiology*, 575(Pt 3), 901–911. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.112094>
- Gladden, L. B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *The Journal of Physiology*, 558(Pt 1), 5–30. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.058701>
- Gledhill, N., Cox, D., & Jamnik, R. (1994). Endurance athletes' stroke volume does not plateau: major advantage is diastolic function. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(9), 1116–1121.
- Gordon, A. M., Homsher, E., & Regnier, M. (2000). Regulation of contraction in striated muscle. *Physiological Reviews*, 80(2), 853–924.
- Gospillou, G., Bourdel-Marchasson, I., Rouland, R., Calmettes, G., Biran, M., Deschodt-Arsac, V., ... Diolet, P. (2014). Mitochondrial energetics is impaired in vivo in aged skeletal muscle. *Aging Cell*, 13(1), 39–48. <https://doi.org/10.1111/acel.12147>
- Greenhaff, P. L., Nevill, M. E., Soderlund, K., Bodin, K., Boobis, L. H., Williams, C., & Hultman, E. (1994). The metabolic responses of human type I and II muscle fibres during maximal treadmill sprinting. *The Journal of Physiology*, 478(Pt 1), 149–155.
- Gueguen, N., Lefaucheur, L., Herpin, P. (2006). Relations entre fonctionnement mitochondrial et types contractiles des fibres musculaires. *Productions Animales*, 19 (4), 265-278..pdf. (n.d.).
- Gundersen, K. (2011). Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: the molecular pathways of exercise. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 86(3), 564–600. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2010.00161.x>
- Guzun, R., & Saks, V. (2010). Application of the principles of systems biology and Wiener's cybernetics for analysis of regulation of energy fluxes in muscle cells in vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(3), 982–1019. <https://doi.org/10.3390/ijms11030982>
- Guzun, R., Timohhina, N., Tepp, K., Monge, C., Kaambre, T., Sikk, P., ... Saks, V. (2009). Regulation of respiration controlled by mitochondrial creatine kinase in permeabilized cardiac cells in situ. Importance of system level properties. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1787(9), 1089–1105. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.03.024>
- Hafstad, A. D., Boardman, N. T., Lund, J., Hagve, M., Khalid, A. M., Wisløff, U., ... Aasum, E. (2011). High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 111(5), 1235–1241. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00594.2011>
- Häkkinen, K., Kraemer, W. J., Pakarinen, A., Triplett-McBride, T., McBride, J. M., Häkkinen, A., ... Newton, R. U. (2002). Effects of heavy resistance/power training on maximal strength, muscle morphology, and hormonal response patterns in 60-75-year-old men and women. *Canadian Journal of Applied Physiology = Revue Canadienne De Physiologie Appliquee*, 27(3), 213–231.

- Halestrap, A. P., & Price, N. T. (1999). The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochemical Journal*, 343(Pt 2), 281–299.
- Hamilton, M. L., Van Remmen, H., Drake, J. A., Yang, H., Guo, Z. M., Kewitt, K., ... Richardson, A. (2001). Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(18), 10469–10474. <https://doi.org/10.1073/pnas.171202698>
- Hanon, C., Lepretre, P.-M., Bishop, D., & Thomas, C. (2010). Oxygen uptake and blood metabolic responses to a 400-m run. *European Journal of Applied Physiology*, 109(2), 233–240. <https://doi.org/10.1007/s00421-009-1339-4>
- Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3), 298–300.
- Harridge, S. D. R. (2007). Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Experimental Physiology*, 92(5), 783–797. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.036525>
- Hawkins, S., & Wiswell, R. (2003). Rate and mechanism of maximal oxygen consumption decline with aging: implications for exercise training. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 33(12), 877–888.
- Helgerud, J., Høydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M., ... Hoff, J. (2007). Aerobic high-intensity intervals improve VO₂max more than moderate training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39(4), 665–671. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3180304570>
- Hellsten, Y., Svensson, M., Sjödin, B., Smith, S., Christensen, A., Richter, E. A., & Bangsbo, J. (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1313–1322. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00631-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00631-1)
- Hepple, R. T. (2014). Mitochondrial Involvement and Impact in Aging Skeletal Muscle. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00211>
- Hepple, R. T., Hagen, J. L., Krause, D. J., & Jackson, C. C. (2003). Aerobic power declines with aging in rat skeletal muscles perfused at matched convective O₂ delivery. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 94(2), 744–751. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00737.2002>
- Hill, A. V., & Lupton, H. (1923). Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. *QJM*, (62), 135-171..pdf. (n.d.).
- Hill, D. K. (1968). Tension due to interaction between the sliding filaments in resting striated muscle. The effect of stimulation. *The Journal of Physiology*, 199(3), 637–684.
- Hollingsworth, K. G., Blamire, A. M., Keavney, B. D., & MacGowan, G. A. (2012). Left ventricular torsion, energetics, and diastolic function in normal human aging. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 302(4), H885–H892. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00985.2011>

- Holloszy, J. O., Chen, M., Cartee, G. D., & Young, J. C. (1991). Skeletal muscle atrophy in old rats: differential changes in the three fiber types. *Mechanisms of Ageing and Development*, *60*(2), 199–213.
- Holloszy, J. O., & Coyle, E. F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, *56*(4), 831–838.
- Hood, D. A. (2001). Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *90*(3), 1137–1157.
- Hoppeler, H., Baum, O., Lurman, G., & Mueller, M. (2011). Molecular mechanisms of muscle plasticity with exercise. *Comprehensive Physiology*, *1*(3), 1383–1412. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100042>
- Houtkooper, R. H., Argmann, C., Houten, S. M., Cantó, C., Jenning, E. H., Andreux, P. A., ... Auwerx, J. (2011). The metabolic footprint of aging in mice. *Scientific Reports*, *1*, 134. <https://doi.org/10.1038/srep00134>
- Howald, H. (1974). [Effects of sport activities on the metabolism]. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, *104*(44), 1535–1538.
- Høydal, M. A., Wisløff, U., Kemi, O. J., & Ellingsen, O. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation: Official Journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*, *14*(6), 753–760. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e3281eacef1>
- Huang, G., Gibson, C. A., Tran, Z. V., & Osness, W. H. (2005). Controlled endurance exercise training and VO₂max changes in older adults: a meta-analysis. *Preventive Cardiology*, *8*(4), 217–225.
- Huang, J. H., & Hood, D. A. (2009). Age-associated mitochondrial dysfunction in skeletal muscle: Contributing factors and suggestions for long-term interventions. *IUBMB Life*, *61*(3), 201–214. <https://doi.org/10.1002/iub.164>
- Hughes, M. A., Myers, B. S., & Schenkman, M. L. (1996). The role of strength in rising from a chair in the functionally impaired elderly. *Journal of Biomechanics*, *29*(12), 1509–1513.
- Hunter, G. R., McCarthy, J. P., & Bamman, M. M. (2004). Effects of resistance training on older adults. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, *34*(5), 329–348.
- Huxley, H. E. (1969). The mechanism of muscular contraction. *Science (New York, N.Y.)*, *164*(3886), 1356–1365.
- Ide, K., Schmalbruch, I. K., Quistorff, B., Horn, A., & Secher, N. H. (2000). Lactate, glucose and O₂ uptake in human brain during recovery from maximal exercise. *The Journal of Physiology*, *522*(Pt 1), 159–164. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-2-00159.xm>

- Inal, M. E., Kanbak, G., & Sunal, E. (2001). Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 305(1–2), 75–80.
- Izquierdo, M., Häkkinen, K., Antón, A., Garrues, M., Ibañez, J., Ruesta, M., & Gorostiaga, E. M. (2001). Maximal strength and power, endurance performance, and serum hormones in middle-aged and elderly men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(9), 1577–1587.
- Johnson, R. J., Sautin, Y. Y., Oliver, W. J., Roncal, C., Mu, W., Sanchez-Lozada, L. G., ... Benner, S. A. (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? *Journal of Comparative Physiology. B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 179(1), 67–76. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0291-7>
- Jornayvaz, F. R., & Shulman, G. I. (2010). Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays in Biochemistry*, 47, 69–84. <https://doi.org/10.1042/bse0470069>
- Joussellin, E., Desnus, B., Fraisse, F., Handschuh, R., Legros, P., Strady, M., & Thomaïdis, M. (1990). La consommation maximale d'oxygène des équipes nationales françaises de 1979 à 1988 (sportifs de plus de 20 ans). *Science & Sports*, 5(1), 39–45. [https://doi.org/10.1016/S0765-1597\(05\)80244-8](https://doi.org/10.1016/S0765-1597(05)80244-8)
- Joyner, M. J., & Casey, D. P. (2015). Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs. *Physiological Reviews*, 95(2), 549–601. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2013>
- Jubrias, S. A., Esselman, P. C., Price, L. B., Cress, M. E., & Conley, K. E. (2001). Large energetic adaptations of elderly muscle to resistance and endurance training. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 90(5), 1663–1670.
- Juel, C., Honig, A., & Pilegaard, H. (1991). Muscle lactate transport studied in sarcolemmal giant vesicles: dependence on fibre type and age. *Acta Physiologica Scandinavica*, 143(4), 361–365. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1991.tb09246.x>
- Kaasik, A., Veksler, V., Boehm, E., Novotova, M., & Ventura-Clapier, R. (2003). From energy store to energy flux: a study in creatine kinase-deficient fast skeletal muscle. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17(6), 708–710. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0684fje>
- Kaczor, J. J., Ziolkowski, W., Antosiewicz, J., Hac, S., Tarnopolsky, M. A., & Popinigis, J. (2006). The effect of aging on anaerobic and aerobic enzyme activities in human skeletal muscle. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(4), 339–344.
- Kammoun, M., Cassar-Malek, I., Meunier, B., & Picard, B. (2014). A Simplified Immunohistochemical Classification of Skeletal Muscle Fibres in Mouse. *European Journal of Histochemistry : EJH*, 58(2). <https://doi.org/10.4081/ejh.2014.2254>

- Kannan, null, & Jain, null. (2000). Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology: The Official Journal of the International Society for Pathophysiology*, 7(3), 153–163.
- Kanski, J., Behring, A., Pelling, J., & Schöneich, C. (2005). Proteomic identification of 3-nitrotyrosine-containing rat cardiac proteins: effects of biological aging. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 288(1), H371-381. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01030.2003>
- Karp, J. R. (2001). Muscle Fiber Types and Training. *Strength & Conditioning Journal*, 23(5), 21..pdf. (n.d.).
- Kay, L., Nicolay, K., Wieringa, B., Saks, V., & Wallimann, T. (2000). Direct evidence for the control of mitochondrial respiration by mitochondrial creatine kinase in oxidative muscle cells in situ. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(10), 6937–6944.
- Kayo, T., Allison, D. B., Weindruch, R., & Prolla, T. A. (2001). Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(9), 5093–5098. <https://doi.org/10.1073/pnas.081061898>
- Kemi, Ole J., Haram, P. M., Loennechen, J. P., Osnes, J.-B., Skomedal, T., Wisløff, U., & Ellingsen, Ø. (2005). Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular Research*, 67(1), 161–172. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.03.010>
- Kemi, Ole Johan, Loennechen, J. P., Wisløff, U., & Ellingsen, Ø. (2002). Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 93(4), 1301–1309. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00231.2002>
- Kent-Braun, J. A. (2009). Skeletal Muscle Fatigue in Old Age: Whose Advantage? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 37(1), 3–9. <https://doi.org/10.1097/JES.0b013e318190ea2e>
- Knowles, A.-M., Herbert, P., Easton, C., Sculthorpe, N., & Grace, F. M. (2015). Impact of low-volume, high-intensity interval training on maximal aerobic capacity, health-related quality of life and motivation to exercise in ageing men. *Age*, 37(2). <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9763-3>
- Koopman, R., & van Loon, L. J. C. (2009). Aging, exercise, and muscle protein metabolism. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 106(6), 2040–2048. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91551.2008>
- Korhonen, M. T., Suominen, H., & Mero, A. (2005). Age and sex differences in blood lactate response to sprint running in elite master athletes. *Canadian Journal of Applied Physiology = Revue Canadienne De Physiologie Appliquee*, 30(6), 647–665.
- Kowald, A., & Kirkwood, T. B. L. (2011). Evolution of the mitochondrial fusion–fission cycle and its role in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(25), 10237–10242.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1101604108>

- Kraemer, W. J., Patton, J. F., Gordon, S. E., Harman, E. A., Deschenes, M. R., Reynolds, K., ... Dziados, J. E. (1995). Compatibility of high-intensity strength and endurance training on hormonal and skeletal muscle adaptations. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *78*(3), 976–989.
- Kraemer, William J., & Ratamess, N. A. (2004). Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *36*(4), 674–688.
- Krebs, H. A. (1973). The discovery of the ornithine cycle of urea synthesis. *Biochemical Education*, *1*(2), 19–23. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(73\)90048-4](https://doi.org/10.1016/0307-4412(73)90048-4)
- Kuznetsov, A. V., Veksler, V., Gellerich, F. N., Saks, V., Margreiter, R., & Kunz, W. S. (2008). Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. *Nature Protocols*, *3*(6), 965–976. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.61>
- Lambert, C. P., & Evans, W. J. (2005). Adaptations to aerobic and resistance exercise in the elderly. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, *6*(2), 137–143. <https://doi.org/10.1007/s11154-005-6726-5>
- Lanza, I. R. (2005). Age-related changes in ATP-producing pathways in human skeletal muscle in vivo. *Journal of Applied Physiology*, *99*(5), 1736-1744..pdf. (n.d.).
- Larsen, S., Nielsen, J., Hansen, C. N., Nielsen, L. B., Wibrand, F., Stride, N., ... Hey-Mogensen, M. (2012). Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *The Journal of Physiology*, *590*(14), 3349–3360. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230185>
- Larsson, L., Sjödén, B., & Karlsson, J. (1978). Histochemical and biochemical changes in human skeletal muscle with age in sedentary males, age 22–65 years. *Acta Physiologica Scandinavica*, *103*(1), 31–39. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1978.tb06187.x>
- Latham, N. K., Bennett, D. A., Stretton, C. M., & Anderson, C. S. (2004). Systematic review of progressive resistance strength training in older adults. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, *59*(1), 48–61.
- Launay, T., Momken, I., Carreira, S., Mougnot, N., Zhou, X.-L., De Koning, L., ... Besse, S. (2017). Acceleration-based training: A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions. *Experimental Gerontology*. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.05.002>
- Layec, G., Haseler, L. J., & Richardson, R. S. (2013). Reduced muscle oxidative capacity is independent of O₂ availability in elderly people. *Age*, *35*(4), 1183–1192. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9442-6>
- Le Moyec, L., Mille-Hamard, L., Triba, M. N., Breuneval, C., Petot, H., & Billat, V. L. (2012). NMR metabolomics for assessment of exercise effects with mouse biofluids. *Analytical and*

- Lee, C. K., Klopp, R. G., Weindruch, R., & Prolla, T. A. (1999). Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science (New York, N.Y.)*, 285(5432), 1390–1393.
- Leeuwenburgh, C., Fiebig, R., Chandwaney, R., & Ji, L. L. (1994). Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *The American Journal of Physiology*, 267(2 Pt 2), R439–445.
- Liang, H., & Ward, W. F. (2006). PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Advances in Physiology Education*, 30(4), 145–151. <https://doi.org/10.1152/advan.00052.2006>
- Loeb, L. A., Wallace, D. C., & Martin, G. M. (2005). The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygen species damage and somatic mtDNA mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(52), 18769–18770. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509776102>
- Lovell, D. I., Cuneo, R., & Gass, G. C. (2009). Strength training improves submaximum cardiovascular performance in older men. *Journal of Geriatric Physical Therapy (2001)*, 32(3), 117–124.
- Lustgarten, M. S., Jang, Y. C., Liu, Y., Qi, W., Qin, Y., Dahia, P. L., ... Van Remmen, H. (2011). MnSOD deficiency results in elevated oxidative stress and decreased mitochondrial function but does not lead to muscle atrophy during aging. *Aging Cell*, 10(3), 493–505. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00695.x>
- Lygate, C. A., Hunyor, I., Medway, D., de Bono, J. P., Dawson, D., Wallis, J., ... Neubauer, S. (2009). Cardiac phenotype of mitochondrial creatine kinase knockout mice is modified on a pure C57BL/6 genetic background. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 46(1), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.09.710>
- Lymn, R. W., & Taylor, E. W. (1971). Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. *Biochemistry*, 10(25), 4617–4624.
- MacInnis, M. J., & Gibala, M. J. (2017). Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *The Journal of Physiology*, 595(9), 2915–2930. <https://doi.org/10.1113/JP273196>
- Mahadevan, S., Shah, S. L., Marrie, T. J., & Slupsky, C. M. (2008). Analysis of metabolomic data using support vector machines. *Analytical Chemistry*, 80(19), 7562–7570. <https://doi.org/10.1021/ac800954c>
- Malbut, K. E., Dinan, S., & Young, A. (2002). Aerobic training in the “oldest old”: the effect of 24 weeks of training. *Age and Ageing*, 31(4), 255–260.
- Malek, M. H., Hüttemann, M., Lee, I., & Coburn, J. W. (2013). Similar skeletal muscle angiogenic and mitochondrial signalling following 8 weeks of endurance exercise in mice: discontinuous versus continuous training. *Experimental Physiology*, 98(3), 807–818.

<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.070169>

- Mansouri, A., Muller, F. L., Liu, Y., Ng, R., Faulkner, J., Hamilton, M., ... Van Remmen, H. (2006). Alterations in mitochondrial function, hydrogen peroxide release and oxidative damage in mouse hind-limb skeletal muscle during aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, *127*(3), 298–306. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2005.11.004>
- Marcinek, D. J., Schenkman, K. A., Ciesielski, W. A., Lee, D., & Conley, K. E. (2005). Reduced mitochondrial coupling in vivo alters cellular energetics in aged mouse skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, *569*(Pt 2), 467–473. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.097782>
- Marsh, G. D., Paterson, D. H., Govindasamy, D., & Cunningham, D. A. (1999). Anaerobic power of the arms and legs of young and older men. *Experimental Physiology*, *84*(3), 589–597.
- Martins Chaves, M., Rocha-Vieira, E., Pereira dos Reis, A., de Lima e Silva, R., Gerzstein, N. C., & Nogueira-Machado, J. A. (2000). Increase of reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species generated by phagocytosing granulocytes related to age. *Mechanisms of Ageing and Development*, *119*(1–2), 1–8.
- Masuda, S., Hayashi, T., Egawa, T., & Taguchi, S. (2009). Evidence for differential regulation of lactate metabolic properties in aged and unloaded rat skeletal muscle. *Experimental Gerontology*, *44*(4), 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.12.003>
- McGuire, D. K., Levine, B. D., Williamson, J. W., Snell, P. G., Blomqvist, C. G., Saltin, B., & Mitchell, J. H. (2001). A 30-year follow-up of the Dallas Bedrest and Training Study: I. Effect of age on the cardiovascular response to exercise. *Circulation*, *104*(12), 1350–1357.
- McMahon, C. D., Chai, R., Radley-Crabb, H. G., Watson, T., Matthews, K. G., Sheard, P. W., ... Shavlakadze, T. (2014). Lifelong exercise and locally produced insulin-like growth factor-1 (IGF-1) have a modest influence on reducing age-related muscle wasting in mice. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *24*(6), e423-435. <https://doi.org/10.1111/sms.12200>
- McMullan, R. C., Kelly, S. A., Hua, K., Buckley, B. K., Faber, J. E., Pardo-Manuel de Villena, F., & Pomp, D. (2016). Long-term exercise in mice has sex-dependent benefits on body composition and metabolism during aging. *Physiological Reports*, *4*(21). <https://doi.org/10.14814/phy2.13011>
- Medeiros, C., Frederico, M. J., da Luz, G., Pauli, J. R., Silva, A. S. R., Pinho, R. A., ... De Souza, C. T. (2011). Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. *Journal of Cellular Physiology*, *226*(3), 666–674. <https://doi.org/10.1002/jcp.22387>
- Meier, P., Renga, M., Hoppeler, H., & Baum, O. (2013). The impact of antioxidant supplements and endurance exercise on genes of the carbohydrate and lipid metabolism in skeletal muscle of mice. *Cell Biochemistry and Function*, *31*(1), 51–59. <https://doi.org/10.1002/cbf.2859>
- Melov, S., Tarnopolsky, M. A., Beckman, K., Felkey, K., & Hubbard, A. (2007). Resistance Exercise Reverses Aging in Human Skeletal Muscle. *PLoS ONE*, *2*(5).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000465>

- Menshikova, E. V., Ritov, V. B., Fairfull, L., Ferrell, R. E., Kelley, D. E., & Goodpaster, B. H. (2006). Effects of Exercise on Mitochondrial Content and Function in Aging Human Skeletal Muscle. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(6), 534–540.
- Meredith, C. N., Frontera, W. R., Fisher, E. C., Hughes, V. A., Herland, J. C., Edwards, J., & Evans, W. J. (1989). Peripheral effects of endurance training in young and old subjects. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 66(6), 2844–2849.
- Messonnier, L., Denis, C., Prieur, F., & Lacour, J.-R. (2005). Are the effects of training on fat metabolism involved in the improvement of performance during high-intensity exercise? *European Journal of Applied Physiology*, 94(4), 434–441. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-1325-4>
- Meydani, M., Evans, W. J., Handelman, G., Biddle, L., Fielding, R. A., Meydani, S. N., ... Cannon, J. G. (1993). Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults. *The American Journal of Physiology*, 264(5 Pt 2), R992–998.
- Meyer, B., & Peters, T. (2003). NMR spectroscopy techniques for screening and identifying ligand binding to protein receptors. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 42(8), 864–890. <https://doi.org/10.1002/anie.200390233>
- Midgley, A. W., McNaughton, L. R., & Wilkinson, M. (2006). Is there an optimal training intensity for enhancing the maximal oxygen uptake of distance runners?: empirical research findings, current opinions, physiological rationale and practical recommendations. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 36(2), 117–132.
- Milanović, Z., Sporiš, G., & Weston, M. (2015). Effectiveness of High-Intensity Interval Training (HIT) and Continuous Endurance Training for VO₂max Improvements: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 45(10), 1469–1481. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0365-0>
- Miljkovic, N., Lim, J.-Y., Miljkovic, I., & Frontera, W. R. (2015). Aging of Skeletal Muscle Fibers. *Annals of Rehabilitation Medicine*, 39(2), 155–162. <https://doi.org/10.5535/arm.2015.39.2.155>
- Miller, M. S., Bedrin, N. G., Callahan, D. M., Previs, M. J., Jennings, M. E., Ades, P. A., ... Toth, M. J. (2013). Age-related slowing of myosin actin cross-bridge kinetics is sex specific and predicts decrements in whole skeletal muscle performance in humans. *Journal of Applied Physiology*, 115(7), 1004–1014. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00563.2013>
- Miller, M. S., Callahan, D. M., & Toth, M. J. (2014). Skeletal muscle myofilament adaptations to aging, disease, and disuse and their effects on whole muscle performance in older adult humans. *Frontiers in Physiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00369>
- Miotto, P. M., & Holloway, G. P. (2016). In the absence of phosphate shuttling, exercise reveals the in vivo importance of creatine-independent mitochondrial ADP transport. *The Biochemical Journal*, 473(18), 2831–2843. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160373>

- Mitchell, W. K., Williams, J., Atherton, P., Larvin, M., Lund, J., & Narici, M. (2012). Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Frontiers in Physiology*, *3*, 260. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00260>
- Moen, R. J., Klein, J. C., & Thomas, D. D. (2014). Electron Paramagnetic Resonance Resolves Effects of Oxidative Stress on Muscle Proteins. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *42*(1), 30–36. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000004>
- Momken, I., Lechêne, P., Koulmann, N., Fortin, D., Mateo, P., Doan, B. T., ... Ventura-Clapier, R. (2005). Impaired voluntary running capacity of creatine kinase-deficient mice. *The Journal of Physiology*, *565*(Pt 3), 951–964. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.086397>
- Montero, D., & Díaz-Cañestro, C. (2016). Endurance training and maximal oxygen consumption with ageing: Role of maximal cardiac output and oxygen extraction. *European Journal of Preventive Cardiology*, *23*(7), 733–743. <https://doi.org/10.1177/2047487315617118>
- Mowbray, J. (1975). A mitochondrial monocarboxylate transporter in rat liver and heart and its possible function in cell control. *Biochemical Journal*, *148*(1), 41–47.
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, *417*(Pt 1), 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
- Myers, J., Prakash, M., Froelicher, V., Do, D., Partington, S., & Atwood, J. E. (2002). Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *The New England Journal of Medicine*, *346*(11), 793–801. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011858>
- Nader, G. A. (2006). Concurrent strength and endurance training: from molecules to man. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *38*(11), 1965–1970. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000233795.39282.33>
- Nahrendorf, M., Spindler, M., Hu, K., Bauer, L., Ritter, O., Nordbeck, P., ... Neubauer, S. (2005). Creatine kinase knockout mice show left ventricular hypertrophy and dilatation, but unaltered remodeling post-myocardial infarction. *Cardiovascular Research*, *65*(2), 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.10.006>
- Nair, K. S. (2005). Aging muscle. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *81*(5), 953–963.
- Narici, M. V., & Maffulli, N. (2010). Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. *British Medical Bulletin*, *95*(1), 139–159. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldq008>
- Navarro, A., & Boveris, A. (2007). The mitochondrial energy transduction system and the aging process. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *292*(2), C670–686. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00213.2006>
- Nemutlu, E., Gupta, A., Zhang, S., Viqar, M., Holmuhamedov, E., Terzic, A., ... Dzeja, P. (2015). Decline of Phosphotransfer and Substrate Supply Metabolic Circuits Hinders ATP Cycling in Aging Myocardium. *PLoS ONE*, *10*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136556>

- Nemutlu, E., Zhang, S., Gupta, A., Juranic, N. O., Macura, S. I., Terzic, A., ... Dzeja, P. (2012). Dynamic phosphometabolomic profiling of human tissues and transgenic models by ^{18}O -assisted ^{31}P NMR and mass spectrometry. *Physiological Genomics*, 44(7), 386–402. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00152.2011>
- Niel, R., Ayachi, M., Mille-Hamard, L., Le Moyec, L., Savarin, P., Clement, M.-J., ... Momken, I. (2016). A new model of short acceleration-based training improves exercise performance in old mice. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. <https://doi.org/10.1111/sms.12809>
- Novotová, M., Pavlovicová, M., Veksler, V. I., Ventura-Clapier, R., & Zahradník, I. (2006). Ultrastructural remodeling of fast skeletal muscle fibers induced by invalidation of creatine kinase. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 291(6), C1279-1285. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00114.2006>
- Nuss, J. E., Amaning, J. K., Bailey, C. E., DeFord, J. H., Dimayuga, V. L., Rabek, J. P., & Papaconstantinou, J. (2009). Oxidative modification and aggregation of creatine kinase from aged mouse skeletal muscle. *Aging (Albany NY)*, 1(6), 557–572.
- O’Connell, K., Gannon, J., Doran, P., & Ohlendieck, K. (2007). Proteomic profiling reveals a severely perturbed protein expression pattern in aged skeletal muscle. *International Journal of Molecular Medicine*, 20(2), 145–153.
- Ogawa, T., Spina, R. J., Martin, W. H., Kohrt, W. M., Schechtman, K. B., Holloszy, J. O., & Ehsani, A. A. (1992). Effects of aging, sex, and physical training on cardiovascular responses to exercise. *Circulation*, 86(2), 494–503.
- Ohlendieck, K. (2011). Proteomic Profiling of Fast-To-Slow Muscle Transitions during Aging. *Frontiers in Physiology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00105>
- Olivetti, G., Melissari, M., Capasso, J. M., & Anversa, P. (1991). Cardiomyopathy of the aging human heart. Myocyte loss and reactive cellular hypertrophy. *Circulation Research*, 68(6), 1560–1568.
- O’Neill, H. M. (2013). AMPK and Exercise: Glucose Uptake and Insulin Sensitivity. *Diabetes & Metabolism Journal*, 37(1), 1–21. <https://doi.org/10.4093/dmj.2013.37.1.1>
- Ozaki, H. (2013). Resistance training induced increase in VO₂ max in young and older subjects. *European Review of Aging and Physical Activity*, 10(2), 107..pdf. (n.d.).
- Pääsuke, M. (n.d.). Proliferation of Human Primary Myoblasts Is Associated with Altered Energy Metabolism in Dependence on Ageing In Vivo and In Vitro. Retrieved from http://www.academia.edu/23004665/Proliferation_of_Human_Primary_Myoblasts_Is_Associated_with_Altered_Energy_Metabolism_in_Dependence_on_Ageing_In_Vivo_and_In_Vitro
- Paganini, A. T., Foley, J. M., & Meyer, R. A. (1997). Linear dependence of muscle phosphocreatine kinetics on oxidative capacity. *The American Journal of Physiology*, 272(2 Pt 1), C501-510.
- Pansarasa, O., Bertorelli, L., Vecchiet, J., Felzani, G., & Marzatico, F. (1999). Age-dependent changes of

- antioxidant activities and markers of free radical damage in human skeletal muscle. *Free Radical Biology & Medicine*, 27(5–6), 617–622.
- Paolisso, G., Tagliamonte, M. R., Rizzo, M. R., Manzella, D., Gambardella, A., & Varricchio, M. (1998). Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *Journal of the American Geriatrics Society*, 46(7), 833–838.
- Parise, G., Brose, A. N., & Tarnopolsky, M. A. (2005). Resistance exercise training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Experimental Gerontology*, 40(3), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.09.002>
- Parise, G., Phillips, S. M., Kaczor, J. J., & Tarnopolsky, M. A. (2005). Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. *Free Radical Biology & Medicine*, 39(2), 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.03.024>
- Pastoris, O., Boschi, F., Verri, M., Baiardi, P., Felzani, G., Vecchiet, J., ... Catapano, M. (2000). The effects of aging on enzyme activities and metabolite concentrations in skeletal muscle from sedentary male and female subjects. *Experimental Gerontology*, 35(1), 95–104.
- Payne, A. M., & Delbono, O. (2004). Neurogenesis of excitation-contraction uncoupling in aging skeletal muscle. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 32(1), 36–40.
- Pedersen, P. L. (2000). ATP synthases in the year 2000 - evolving views about the structures of these remarkable enzyme complexes. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 32(4), 325–332..pdf. (n.d.).
- Pellerin, L. (2005). How astrocytes feed hungry neurons. *Molecular Neurobiology*, 32(1), 59–72. <https://doi.org/10.1385/MN:32:1:059>
- Periasamy, M., Bhupathy, P., & Babu, G. J. (2008). Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovascular Research*, 77(2), 265–273. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvm056>
- Perry, C. G. R., Heigenhauser, G. J. F., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2008). High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 33(6), 1112–1123. <https://doi.org/10.1139/H08-097>
- Perry, C. G. R., Kane, D. A., Herbst, E. A. F., Mukai, K., Lark, D. S., Wright, D. C., ... Holloway, G. P. (2012). Mitochondrial creatine kinase activity and phosphate shuttling are acutely regulated by exercise in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 590(Pt 21), 5475–5486. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.234682>
- Pesta, D., Hoppel, F., Macek, C., Messner, H., Faulhaber, M., Kobel, C., ... Gnaiger, E. (2011). Similar qualitative and quantitative changes of mitochondrial respiration following strength and endurance training in normoxia and hypoxia in sedentary humans. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(4), R1078–1087.

<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00285.2011>

- Petersen, K. F., Befroy, D., Dufour, S., Dziura, J., Ariyan, C., Rothman, D. L., ... Shulman, G. I. (2003). Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science (New York, N.Y.)*, *300*(5622), 1140–1142. <https://doi.org/10.1126/science.1082889>
- Peterson, C. M., Johannsen, D. L., & Ravussin, E. (2012). Skeletal Muscle Mitochondria and Aging: A Review. *Journal of Aging Research*, *2012*. <https://doi.org/10.1155/2012/194821>
- Philp, A., Macdonald, A. L., & Watt, P. W. (2005). Lactate--a signal coordinating cell and systemic function. *The Journal of Experimental Biology*, *208*(Pt 24), 4561–4575. <https://doi.org/10.1242/jeb.01961>
- Picard, M., Wright, K. J., Ritchie, D., Thomas, M. M., & Hepple, R. T. (2012). Mitochondrial Function in Permeabilized Cardiomyocytes Is Largely Preserved in the Senescent Rat Myocardium. *PLoS ONE*, *7*(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043003>
- Picca, A., & Lezza, A. M. S. (2015). Regulation of mitochondrial biogenesis through TFAM–mitochondrial DNA interactions: Useful insights from aging and calorie restriction studies. *Mitochondrion*, *25*, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2015.10.001>
- Pimentel, A. E., Gentile, C. L., Tanaka, H., Seals, D. R., & Gates, P. E. (2003). Greater rate of decline in maximal aerobic capacity with age in endurance-trained than in sedentary men. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *94*(6), 2406–2413. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00774.2002>
- Podolin, D. A., Pagliassotti, M. J., Gleeson, T. T., & Mazzeo, R. S. (1994). Influence of endurance training on the age-related decline in hepatic glyconeogenesis. *Mechanisms of Ageing and Development*, *75*(1), 81–93.
- Poortmans, J., & Boisseau, N. (2017). *Biochimie des activités physiques et sportives*. De Boeck Supérieur.
- Puchalska, P., & Crawford, P. A. (2017). Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metabolism*, *25*(2), 262–284. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.12.022>
- Putman, C. T., Xu, X., Gillies, E., MacLean, I. M., & Bell, G. J. (2004). Effects of strength, endurance and combined training on myosin heavy chain content and fibre-type distribution in humans. *European Journal of Applied Physiology*, *92*(4–5), 376–384. <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1104-7>
- Pyka, G., Lindenberger, E., Charette, S., & Marcus, R. (1994). Muscle strength and fiber adaptations to a year-long resistance training program in elderly men and women. *Journal of Gerontology*, *49*(1), M22-27.
- Quadrilatero, J., Alway, S. E., & Dupont-Versteegden, E. E. (2011). Skeletal muscle apoptotic response

- to physical activity: potential mechanisms for protection. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 36(5), 608–617. <https://doi.org/10.1139/h11-064>
- Quistorff, B., Secher, N. H., & Van Lieshout, J. J. (2008). Lactate fuels the human brain during exercise. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22(10), 3443–3449. <https://doi.org/10.1096/fj.08-106104>
- Rasmussen, U. F., Krstrup, P., Kjaer, M., & Rasmussen, H. N. (2003). Experimental evidence against the mitochondrial theory of aging. A study of isolated human skeletal muscle mitochondria. *Experimental Gerontology*, 38(8), 877–886.
- Reaburn, P., & Dascombe, B. (2009). Anaerobic performance in masters athletes. *European Review of Aging and Physical Activity*, 6(1), 39. <https://doi.org/10.1007/s11556-008-0041-6>
- Reindell H, Roskamm H,. (1959) Ein Beitrag zu den physiologischen Grundlagen des Intervalltrainings unter besonderer Berücksichtigung des Kreislaufs. Schweiz Zschr Sportme.pdf. (n.d.).
- Reiser, P. J., Moss, R. L., Giulian, G. G., & Greaser, M. L. (1985). Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition. *The Journal of Biological Chemistry*, 260(16), 9077–9080.
- Rennie, M. J., & Tipton, K. D. (2000). Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition. *Annual Review of Nutrition*, 20, 457–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.20.1.457>
- Richards, W. (2005). *The influence of aging and cardiovascular training status upon monocarboxylate transporters*. The Ohio State University. Retrieved from https://etd.ohiolink.edu/pg_10?0::NO:10:P10_ACCESSION_NUM:osu1133362045
- Rodas, G., Ventura, J. L., Cadefau, J. A., Cussó, R., & Parra, J. (2000). A short training programme for the rapid improvement of both aerobic and anaerobic metabolism. *European Journal of Applied Physiology*, 82(5–6), 480–486. <https://doi.org/10.1007/s004210000223>
- Rooyackers, O. E., Adey, D. B., Ades, P. A., & Nair, K. S. (1996). Effect of age on in vivo rates of mitochondrial protein synthesis in human skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(26), 15364–15369.
- Rossiter, H. B., Ward, S. A., Kowalchuk, J. M., Howe, F. A., Griffiths, J. R., & Whipp, B. J. (2002). Dynamic asymmetry of phosphocreatine concentration and O₂ uptake between the on- and off-transients of moderate- and high-intensity exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 541(Pt 3), 991–1002.
- Rossiter, H., Howlett, R., Holcombe, H., Entin, P., Wagner, H., & Wagner, P. (2005). Age is no barrier to muscle structural, biochemical and angiogenic adaptations to training up to 24 months in female rats. *The Journal of Physiology*, 565(Pt 3), 993–1005. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.080663>

- Rothfield, L. I. (2014). *Structure and Function of Biological Membranes*. Academic Press.
- Rowland, T. (2009). Endurance athletes' stroke volume response to progressive exercise: a critical review. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 39(8), 687–695. <https://doi.org/10.2165/00007256-200939080-00005>
- Roy, A., & Sil, P. C. (2012). Tertiary butyl hydroperoxide induced oxidative damage in mice erythrocytes: Protection by taurine. *Pathophysiology: The Official Journal of the International Society for Pathophysiology*, 19(2), 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2012.05.001>
- Ryan, A. S. (2000). Insulin resistance with aging: effects of diet and exercise. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 30(5), 327–346.
- Safdar, A., Bourgeois, J. M., Ogborn, D. I., Little, J. P., Hettinga, B. P., Akhtar, M., ... Tarnopolsky, M. A. (2011). Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(10), 4135–4140. <https://doi.org/10.1073/pnas.1019581108>
- Safdar, A., Little, J. P., Stokl, A. J., Hettinga, B. P., Akhtar, M., & Tarnopolsky, M. A. (2011). Exercise Increases Mitochondrial PGC-1 α Content and Promotes Nuclear-Mitochondrial Cross-talk to Coordinate Mitochondrial Biogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(12), 10605–10617. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.211466>
- Saks, V. A., Kongas, O., Vendelin, M., & Kay, L. (2000). Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta Physiologica Scandinavica*, 168(4), 635–641. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2000.00715.x>
- Saks, V., Favier, R., Guzun, R., Schlattner, U., & Wallimann, T. (2006). Molecular system bioenergetics: regulation of substrate supply in response to heart energy demands. *The Journal of Physiology*, 577(Pt 3), 769–777. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.120584>
- Saks, V., Kaambre, T., Guzun, R., Anmann, T., Sikk, P., Schlattner, U., ... Vendelin, M. (2007). The creatine kinase phosphotransfer network: thermodynamic and kinetic considerations, the impact of the mitochondrial outer membrane and modelling approaches. *Sub-Cellular Biochemistry*, 46, 27–65.
- Saks, V., Monge, C., & Guzun, R. (2009). Philosophical basis and some historical aspects of systems biology: from Hegel to Noble - applications for bioenergetic research. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(3), 1161–1192. <https://doi.org/10.3390/ijms10031161>
- Sanada, K., Kearns, C. F., Kojima, K., & Abe, T. (2005). Peak oxygen uptake during running and arm cranking normalized to total and regional skeletal muscle mass measured by magnetic resonance imaging. *European Journal of Applied Physiology*, 93(5–6), 687–693. <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1250-y>
- Satrústegui, J., Cuezva, J. M., & Machado, A. (1986). Increased basal gluconeogenesis in the aged rat. *FEBS Letters*, 197(1–2), 159–163.

- Savorani, F., Tomasi, G., & Engelsen, S. B. (2010). icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. *Journal of Magnetic Resonance*, 202(2), 190–202. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2009.11.012>
- Sayed, R. K. A., de Leonardis, E. C., Guerrero-Martínez, J. A., Rahim, I., Mokhtar, D. M., Saleh, A. M., ... Acuña-Castroviejo, D. (2016). Identification of morphological markers of sarcopenia at early stage of aging in skeletal muscle of mice. *Experimental Gerontology*, 83, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.07.007>
- Schantz, P. G. (1986). Plasticity of human skeletal muscle with special reference to effects of physical training on enzyme levels of the NADH shuttles and phenotypic expression of slow and fast myofibrillar proteins. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 558, 1–62.
- Schefer, V., & Talan, M. I. (1996). Oxygen consumption in adult and AGED C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity. *Experimental Gerontology*, 31(3), 387–392.
- Scheiner-Bobis, G. (2002). The sodium pump. Its molecular properties and mechanics of ion transport. *European Journal of Biochemistry*, 269(10), 2424–2433.
- Schiaffino, S., & Reggiani, C. (2011). Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiological Reviews*, 91(4), 1447–1531. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2010>
- Schlattner, U., Tokarska-Schlattner, M., & Wallimann, T. (2006). Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1762(2), 164–180. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2005.09.004>
- Schulte, J. N., & Yarasheski, K. E. (2001). Effects of resistance training on the rate of muscle protein synthesis in frail elderly people. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 11 Suppl, S111-118.
- Schuyler, G. T., & Yarbrough, L. R. (1990). Effects of age on myosin and creatine kinase isoforms in left ventricles of Fischer 344 rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 56(1), 23–38.
- Seo, A. Y., Joseph, A.-M., Dutta, D., Hwang, J. C. Y., Aris, J. P., & Leeuwenburgh, C. (2010). New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J Cell Sci*, 123(15), 2533–2542. <https://doi.org/10.1242/jcs.070490>
- Sévin, C., & Girard, J. (1999). La chaîne respiratoire et sa génétique. *Médecine Thérapeutique / Pédiatrie*, 2(4), 227–34.
- Shaw, B. S., & Shaw, I. (2005). Effect of resistance training on cardiorespiratory endurance and coronary artery disease risk. *Cardiovascular Journal of South Africa: Official Journal for Southern Africa Cardiac Society [and] South African Society of Cardiac Practitioners*, 16(5), 256–259.
- Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., & Ames, B. N. (1994). Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(23),

10771–10778.

- Shih, H., Lee, B., Lee, R. J., & Boyle, A. J. (2011). The aging heart and post-infarction left ventricular remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, *57*(1), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.08.623>
- Shimada, K., Jong, C. J., Takahashi, K., & Schaffer, S. W. (2015). Role of ROS Production and Turnover in the Antioxidant Activity of Taurine. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *803*, 581–596. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15126-7_47
- Short, K. R., Bigelow, M. L., Kahl, J., Singh, R., Coenen-Schimke, J., Raghavakaimal, S., & Nair, K. S. (2005). Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(15), 5618–5623. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501559102>
- Short, K. R., Vittone, J. L., Bigelow, M. L., Proctor, D. N., & Nair, K. S. (2004). Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *286*(1), E92-101. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00366.2003>
- Shvartz, E., & Reibold, R. C. (1990). Aerobic fitness norms for males and females aged 6 to 75 years: a review. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, *61*(1), 3–11.
- Sial, S., Coggan, A. R., Carroll, R., Goodwin, J., & Klein, S. (1996). Fat and carbohydrate metabolism during exercise in elderly and young subjects. *The American Journal of Physiology*, *271*(6 Pt 1), E983-989.
- Singh, S. N., & Kanungo, M. S. (1968). Alterations in lactate dehydrogenase of the brain, heart, skeletal muscle, and liver of rats of various ages. *The Journal of Biological Chemistry*, *243*(17), 4526–4529.
- Siu, P. M., Donley, D. A., Bryner, R. W., & Alway, S. E. (2003). Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *94*(2), 555–560. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00821.2002>
- Smiles, W. J., Hawley, J. A., & Camera, D. M. (2016). Effects of skeletal muscle energy availability on protein turnover responses to exercise. *The Journal of Experimental Biology*, *219*(Pt 2), 214–225. <https://doi.org/10.1242/jeb.125104>
- Soffe, Z., Radley-Crabb, H. G., McMahon, C., Grounds, M. D., & Shavlakadze, T. (2016). Effects of loaded voluntary wheel exercise on performance and muscle hypertrophy in young and old male C57Bl/6J mice. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *26*(2), 172–188. <https://doi.org/10.1111/sms.12416>
- Spina, R. J., Chi, M. M., Hopkins, M. G., Nemeth, P. M., Lowry, O. H., & Holloszy, J. O. (1996). Mitochondrial enzymes increase in muscle in response to 7-10 days of cycle exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *80*(6), 2250–2254.

- Spindler, M., Niebler, R., Remkes, H., Horn, M., Lanz, T., & Neubauer, S. (2002). Mitochondrial creatine kinase is critically necessary for normal myocardial high-energy phosphate metabolism. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, *283*(2), H680–H687. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00800.2001>
- Spriet, L. L., Howlett, R. A., & Heigenhauser, G. J. (2000). An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *32*(4), 756–763.
- Steeghs, K., Heerschap, A., de Haan, A., Ruitenbeek, W., Oerlemans, F., van Deursen, J., ... Wieringa, B. (1997). Use of gene targeting for compromising energy homeostasis in neuro-muscular tissues: the role of sarcomeric mitochondrial creatine kinase. *Journal of Neuroscience Methods*, *71*(1), 29–41.
- Steeghs, Karen, Oerlemans, F., Haan, A. de, Heerschap, A., Verdoodt, L., Bie, M. de, ... Wieringa, B. (1998). Cytoarchitectural and metabolic adaptations in muscles with mitochondrial and cytosolic creatine kinase deficiencies. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *184*(1–2), 183–194. <https://doi.org/10.1023/A:1006811717709>
- Stephens, F. B., & Galloway, S. D. R. (2013). Carnitine and fat oxidation. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, *76*, 13–23. <https://doi.org/10.1159/000350224>
- Stuart, J. A., Cadenas, S., Jekabsons, M. B., Roussel, D., & Brand, M. D. (2001). Mitochondrial proton leak and the uncoupling protein 1 homologues. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1504*(1), 144–158.
- Sui, X., Laditka, J. N., Hardin, J. W., & Blair, S. N. (2007). Estimated functional capacity predicts mortality in older adults. *Journal of the American Geriatrics Society*, *55*(12), 1940–1947. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2007.01455.x>
- Sundell, J. (2011). Resistance Training Is an Effective Tool against Metabolic and Frailty Syndromes. *Advances in Preventive Medicine*, *2011*. <https://doi.org/10.4061/2011/984683>
- Swain, D. P. (2005). Moderate or vigorous intensity exercise: which is better for improving aerobic fitness? *Preventive Cardiology*, *8*(1), 55–58.
- Tabata, I., Nishimura, K., Kouzaki, M., Hirai, Y., Ogita, F., Miyachi, M., & Yamamoto, K. (1996). Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and VO₂max. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *28*(10), 1327–1330.
- Tanaka, H., & Seals, D. R. (2008). Endurance exercise performance in Masters athletes: age-associated changes and underlying physiological mechanisms. *The Journal of Physiology*, *586*(1), 55–63. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.141879>
- Taylor, H. L., Buskirk, E., & Henschel, A. (1955). Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance. *Journal of Applied Physiology*, *8*(1), 73–80.

- Tepp, K., Puurand, M., Timohhina, N., Adamson, J., Klepinin, A., Truu, L., ... Kaambre, T. (2017). Changes in the mitochondrial function and in the efficiency of energy transfer pathways during cardiomyocyte aging. *Molecular and Cellular Biochemistry*. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-3005-1>
- Tepp, K., Timohhina, N., Puurand, M., Klepinin, A., Chekulayev, V., Shevchuk, I., & Kaambre, T. (2016). Bioenergetics of the aging heart and skeletal muscles: Modern concepts and controversies. *Ageing Research Reviews*, 28, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.04.001>
- ter Veld, F., Jeneson, J. A. L., & Nicolay, K. (2005). Mitochondrial affinity for ADP is twofold lower in creatine kinase knock-out muscles. Possible role in rescuing cellular energy homeostasis. *The FEBS Journal*, 272(4), 956–965. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2004.04529.x>
- Tesch, P. A., Thorsson, A., & Fujitsuka, N. (1989). Creatine phosphate in fiber types of skeletal muscle before and after exhaustive exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 66(4), 1756–1759.
- Tian, L., Cai, Q., & Wei, H. (1998). Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radical Biology & Medicine*, 24(9), 1477–1484.
- Timohhina, N., Guzun, R., Tepp, K., Monge, C., Varikmaa, M., Vija, H., ... Saks, V. (2009). Direct measurement of energy fluxes from mitochondria into cytoplasm in permeabilized cardiac cells in situ: some evidence for Mitochondrial Interactosome. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 41(3), 259–275. <https://doi.org/10.1007/s10863-009-9224-8>
- Tiraby, C., & Langin, D. (2005). PGC-1 α , un co-activateur transcriptionnel impliqué dans le métabolisme. *médecine-sciences*, 21(1), 49-54..pdf. (n.d.).
- Tonkonogi, M., Fernström, M., Walsh, B., Ji, L. L., Rooyackers, O., Hammarqvist, F., ... Sahlin, K. (2003). Reduced oxidative power but unchanged antioxidative capacity in skeletal muscle from aged humans. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 446(2), 261–269. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1044-9>
- Tortora, G. J., Anagnostakos, N. P., & Grabowski, S. R. (1994). *Principes d'anatomie et de physiologie*. De Boeck.
- Triba, M. N., Le Moyec, L., Amathieu, R., Goossens, C., Bouchemal, N., Nahon, P., ... Savarin, P. (2015). PLS/OPLS models in metabolomics: the impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters. *Molecular bioSystems*, 11(1), 13–19. <https://doi.org/10.1039/c4mb00414k>
- Trounce, I., Byrne, E., & Marzuki, S. (1989). Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet (London, England)*, 1(8639), 637–639.
- Trygg, J., & Wold, S. (2002). Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). *Journal of Chemometrics*, 16(3), 119–128. <https://doi.org/10.1002/cem.695>

- Tschakert, G., & Hofmann, P. (2013). High-intensity intermittent exercise: methodological and physiological aspects. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 8(6), 600–610.
- Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(Pt 2), 335–344. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
- Tzankoff, S. P., & Norris, A. H. (1977). Effect of muscle mass decrease on age-related BMR changes. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 43(6), 1001–1006.
- Vaarmann, A., Fortin, D., Veksler, V., Momken, I., Ventura-Clapier, R., & Garnier, A. (2008). Mitochondrial biogenesis in fast skeletal muscle of CK deficient mice. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1777(1), 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.11.003>
- van Hall, G., Strømstad, M., Rasmussen, P., Jans, O., Zaar, M., Gam, C., ... Nielsen, H. B. (2009). Blood lactate is an important energy source for the human brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29(6), 1121–1129. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.35>
- van Loon, L. J., Greenhaff, P. L., Constantin-Teodosiu, D., Saris, W. H., & Wagenmakers, A. J. (2001). The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans. *The Journal of Physiology*, 536(Pt 1), 295–304.
- Vella, C. A., & Robergs, R. A. (2005). A review of the stroke volume response to upright exercise in healthy subjects. *British Journal of Sports Medicine*, 39(4), 190–195. <https://doi.org/10.1136/bjism.2004.013037>
- Ventura-Clapier, R. (1998). Créatine kinases et transferts d'énergie dans le myocyte cardiaque..pdf. (n.d.).
- Ventura-Clapier, R., De Sousa, E., & Veksler, V. (2002). Metabolic myopathy in heart failure. *News in Physiological Sciences: An International Journal of Physiology Produced Jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society*, 17, 191–196.
- Ventura-Clapier, R., Mettauer, B., & Bigard, X. (2007). Beneficial effects of endurance training on cardiac and skeletal muscle energy metabolism in heart failure. *Cardiovascular Research*, 73(1), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.09.003>
- Verdijk, L. B., Koopman, R., Schaart, G., Meijer, K., Savelberg, H. H. C. M., & van Loon, L. J. C. (2007). Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 292(1), E151-157. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00278.2006>
- Vincent, G., Lamon, S., Gant, N., Vincent, P. J., MacDonald, J. R., Markworth, J. F., ... Hickey, A. J. R. (2015). Changes in mitochondrial function and mitochondria associated protein expression in

- response to 2-weeks of high intensity interval training. *Frontiers in Physiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00051>
- Voet, D., Voet, J.-G., Rousseau, G., & Domenjoud, L. (2005). *Biochimie* (2e édition). Bruxelles: De Boeck.
- Wagenmakers, A. J. (1998). Protein and amino acid metabolism in human muscle. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 441, 307–319.
- Wall, B. T., Stephens, F. B., Constantin-Teodosiu, D., Marimuthu, K., Macdonald, I. A., & Greenhaff, P. L. (2011). Chronic oral ingestion of l-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 4), 963–973. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.201343>
- Wallimann, T., Pelloni, G., Turner, D. C., & Eppenberger, H. M. (1978). Monovalent antibodies against MM-creatine kinase remove the M line from myofibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(9), 4296–4300.
- Wallimann, Theo. (2015). The extended, dynamic mitochondrial reticulum in skeletal muscle and the creatine kinase (CK)/phosphocreatine (PCr) shuttle are working hand in hand for optimal energy provision. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 36(4–5), 297–300. <https://doi.org/10.1007/s10974-015-9427-z>
- Wallimann, Theo, Tokarska-Schlattner, M., & Schlattner, U. (2011). The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*, 40(5), 1271–1296. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0877-3>
- Wang, Q., Zhao, X., He, S., Liu, Y., An, M., & Ji, J. (2010). Differential proteomics analysis of specific carbonylated proteins in the temporal cortex of aged rats: the deterioration of antioxidant system. *Neurochemical Research*, 35(1), 13–21. <https://doi.org/10.1007/s11064-009-0023-8>
- Washington, T. A., Healey, J. M., Thompson, R. W., Lowe, L. L., & Carson, J. A. (2014). Lactate dehydrogenase regulation in aged skeletal muscle: Regulation by anabolic steroids and functional overload. *Experimental Gerontology*, 57, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.05.003>
- Wassmann, S., Wassmann, K., & Nickenig, G. (2004). Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 44(4), 381–386. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7>
- Wei, Y.-H., Wu, S.-B., Ma, Y.-S., & Lee, H.-C. (2009). Respiratory function decline and DNA mutation in mitochondria, oxidative stress and altered gene expression during aging. *Chang Gung Medical Journal*, 32(2), 113–132.
- Westermann, B. (2010). Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 11(12), 872–884. <https://doi.org/10.1038/nrm3013>
- White, M., Roden, R., Minobe, W., Khan, M. F., Larrabee, P., Wollmering, M., ... Feldman, A. M. (1994).

- Age-related changes in beta-adrenergic neuroeffector systems in the human heart. *Circulation*, 90(3), 1225–1238.
- Wibom, R., Hagenfeldt, L., & von Döbeln, U. (2002). Measurement of ATP production and respiratory chain enzyme activities in mitochondria isolated from small muscle biopsy samples. *Analytical Biochemistry*, 311(2), 139–151.
- Wiegand, G., & Remington, S. J. (1986). Citrate synthase: structure, control, and mechanism. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, 15, 97–117. <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.15.060186.000525>
- Wilmore, J. H., Costill, D. L., & Kenney, L. (2017). *Physiologie du sport et de l'exercice*. De Boeck Supérieur.
- Wilson, J. M., Marin, P. J., Rhea, M. R., Wilson, S. M. C., Loenneke, J. P., & Anderson, J. C. (2012). Concurrent training: a meta-analysis examining interference of aerobic and resistance exercises. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 26(8), 2293–2307. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31823a3e2d>
- Wilson, T. M., & Tanaka, H. (2000). Meta-analysis of the age-associated decline in maximal aerobic capacity in men: relation to training status. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 278(3), H829-834.
- Wisløff, U., Helgerud, J., Kemi, O. J., & Ellingsen, O. (2001). Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max) and cardiac hypertrophy. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 280(3), H1301-1310.
- Wu, P., Zhang, S., Spinner, R. J., Lizardi, M. T., Gu, Y., Yu, C., ... Wang, H. (2017). A novel triple immunoenzyme staining enables simultaneous identification of all muscle fiber types on a single skeletal muscle cryosection from normal, denervated or reinnervated rats. *Neural Regeneration Research*, 12(8), 1357–1364. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.213560>
- Yaniv, Y., Juhaszova, M., & Sollott, S. J. (2013). Age-related changes of myocardial ATP supply and demand mechanisms. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 24(10), 495–505. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.06.001>
- Ydfors, M., Hughes, M. C., Laham, R., Schlattner, U., Norrbom, J., & Perry, C. G. R. (2016). Modelling in vivo creatine/phosphocreatine in vitro reveals divergent adaptations in human muscle mitochondrial respiratory control by ADP after acute and chronic exercise. *The Journal of Physiology*, 594(11), 3127–3140. <https://doi.org/10.1113/JP271259>
- Youle, R. J., & van der Bliek, A. M. (2012). Mitochondrial Fission, Fusion, and Stress. *Science (New York, N.Y.)*, 337(6098), 1062–1065. <https://doi.org/10.1126/science.1219855>
- Zhang, D. X., & Gutterman, D. D. (2007). Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 292(5), H2023-2031. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01283.2006>

- Zoll, J., Sanchez, H., N'Guessan, B., Ribera, F., Lampert, E., Bigard, X., ... Mettauer, B. (2002). Physical activity changes the regulation of mitochondrial respiration in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 543(Pt 1), 191–200.
- Zoll, Joffrey, Koulmann, N., Bahi, L., Ventura-Clapier, R., & Bigard, A.-X. (2003). Quantitative and qualitative adaptation of skeletal muscle mitochondria to increased physical activity. *Journal of Cellular Physiology*, 194(2), 186–193. <https://doi.org/10.1002/jcp.10224>
- Zong, H., Ren, J. M., Young, L. H., Pypaert, M., Mu, J., Birnbaum, M. J., & Shulman, G. I. (2002). AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(25), 15983–15987. <https://doi.org/10.1073/pnas.252625599>
- Zoppi, C. C., Hohl, R., Silva, F. C., Lazarim, F. L., Neto, J. M. A., Stancanneli, M., & Macedo, D. V. (2006). Vitamin C and E Supplementation Effects in Professional Soccer Players Under Regular Training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 3(2), 37–44. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-3-2-37>

ANNEXES

ANNEXE 1

Protocole d'homogénéisation des tissus

Réaliser le tampon d'homogénéisation ci-dessous :

Produit	PM	Concentration	Préparer	Pour 500 ml
HEPES	238.3	5mM	1.191 mg.ml ⁻¹	595.75 mg
EGTA	380.4	1mM	0.3804 mg.ml ⁻¹	190.2 mg
Triton X100	Pure	0.1%	0.1% / 100ml	0.5 ml
DTT	154.2	1mM	0.1542 mg.ml ⁻¹	77.1mg
KOH	10N			pH 8.7

(Garder dans de la glace)

- **Peser** sans décongeler X mg (environ 10mg) de tissus en enlevant, si possible, les tendons.
- Prendre ce qu'il faut de tissus frais et y ajouter :

X mg de tissu × 19 en volume (µL) de Tp d'homogénéisation. (ou × 49 si peu de tissus*)

(Attention X doit être tout de même proche entre chaque tissu)

NB : j'ai personnellement broyé dans **49 fois le poids car si l'on prend seulement 10mg de muscle nous n'avons pas assez d'homogénat pour broyer convenablement*

- **Broyer** le muscle à l'aide : de Potters ou du polythron (*dans notre cas : potters*) tout en laissant les potters dans la glace.
- **Marquer et ranger** à -80°C l'homogénat obtenu.

ANNEXE 2

Protocole de mesure de l'activité enzymatique de la CS

Dosage :

- Allumer le Bain-marie pour 37°C (**Vérifier le branchement de la pompe**)
- Allumer spectromètre et logiciel PC

Préparation des différents tampons :

Tris :

Dissoudre 3.0275 g dans 250ml d'**eau distillée**, et utiliser HCL pour obtenir un pH de 8.3.
(Garder au réfrigérateur)

DTNB :

Dissoudre 3.96 mg dans 10 ml du **tampon Tris**.
(Garder dans un tube ou boîte **sombre** au réfrigérateur 2 semaines maximum)

Acetyl CoA :

Dissoudre 3.1 mg dans 1 ml d'**eau distillée**, soit pour les tubes de 5 mg, rajouter : 1.6 ml.
(Garder à -20°C et de préférence l'utiliser le jour même)

Oxaloacetate :

Dissoudre 13.2 mg dans 10 ml de **tampon Tris**.
(A utiliser le jour même)

Attention :

Avant de préparer ces solutions, **CALCULER LES QUANTITES NECESSAIRES**.

Il faut donc savoir que pour 1 cuve (de spectro) de 1 ml il y aura :

- 20 uL d'homogénat (plutôt 10 uL pour le cœur) → valeur à tester préalablement
- 60 uL d'OAA
- 920 uL de tampon Tris-DTNB-CoA : (ou 930 uL si cœur par exemple) contenant :
 - o 640 uL de Tris (ou plus si cœur)
 - o 100 uL de DTNB
 - o 160 uL d'Acetyl CoA

Calculer ensuite la quantité voulue en multipliant par le nombre de mesures à réaliser.

Penser à **doubler/tripler** si l'on veut faire des **duplicats/triplicats** pour chaque échantillon et **prendre 10% de sûreté**.

Préparer donc le tampon Tris-DTNB-CoA avec comme ratio :

- 640 uL de Tris × (nombre de mesures)
- 100 uL de DTNB × (nombre de mesures)
- 160 uL d'Acetyl CoA × (nombre de mesures)

Laisser l'Oxaloacetate seul

Sortir les homogénats et les laisser se « réchauffer » doucement dans la glace

Spectromètre :

- Allumer le logiciel UVProbe (vérifier la notification « PC control » sur le spectro)
- Aller sur [Kinectics]
- Cliquer sur [Connect]
- Réaliser le [Cell Blank] avec de l'eau distillée ou avec rien dans les cuvettes
- Aller dans [Methods] → [M] et rentrer les paramètres :
 - o Single wavelength = 412 nm
 - o Total time = Temps maximal d'enregistrement en second (prendre large)
 - o → click OK
- Mettre cuvette témoin (Tampon Tris-DTNB-CoA) dans cuvette du haut
- Mettre échantillon (Tampon T-D-C + Homogénat) dans cuvette du bas)
- Faire la Baseline en remplissant :
 - o Start = 412 (valeur voulue) et End = 402 (automatique ?)
- [START] → laisser 4 min
- A 240 seconde : [PAUSE]
→ **Ajouter OAA** en pipetant plusieurs fois pour mélanger (ne pas oublier le capuchon)
- Refermer et rapidement cliquer sur [RESUME] → laisser 4 min (ou moins suivant la courbe)
- [STOP]
- Sauvegarder

NB : pour avoir le tableau récapitulatif cliquer sur Activity Table [/A] et le copié collé dans une feuille Excel pour pouvoir l'utiliser sur un autre ordinateur.

ANNEXE 3

Protocole de mesure de l'activité enzymatique de la LDH

Préparer les différentes solutions :

Produit	PM	Concentration	Pour 100mL	Pour 500mL	Pour 1L
K ₂ HPO ₄	174.18	34.1 mM	592 mg	2.96 g	5.92 g
KH ₂ PO ₄	136.09	7.35 mM	100 mg	0.5 g	1 g
Sodium pyruvate	110	0.63 mM	6.89 mg	34.45 mg	68.9 mg
KCL			pH = 7.5		
A part :			Pour 1 mL	Pour 2 mL	Pour 3 mL
NADHNA2	709.4	12.4 mM	8.79 mg	17.58 mg	26.37 mg
NAHCO ₃ (bicarbonate de soude)	84.01	0.12 mM	10 mg	20 mg	30 mg

Procédure :

- Allumer le Bain-marie à 30°C et le spectro (longueur d'onde = 340 nm)
- Préparer le mélange NADHNA2 / NAHCO₃ (*prévoir pour la journée !*)
- Mettre le Tampon LDH au BM 30°C
- Mettre 3 mL de tampon LDH dans la cuve « Témoin » (*on le garde toute la manip.*)
- Mettre **3 mL de tampon LDH + 50µL NADH/NAHCO₃** dans cuve « échantillon »
→ Bien mélanger !
- Faire la **baseline** (environ 2 minutes, si nécessaire : 4min)
- PAUSE
- Mettre 20 µL d'échantillon (ou plus suivant dilution et les tests préalable)
→ Bien mélanger !
- **RE-START** (environ 4 min ou plus suivant la pente)

NB :

- *Pente descendante, plus rapide pour le cœur (donc plus diluer les échantillons)*
- *Ex : Cœur dilué au 5^{ème}, quadri dilué au demi.*
-

Ce qu'il y a dans une cuve « échantillon » :

Cuve « échantillon » de 4 mL		
K ₂ HPO ₄ + KH ₂ PO ₄ + Na pyruvate (pH 7.5)	3 mL	(Appelé Tampon LDH)
NADHNA ₂ + NAHCO ₃	50 µL	A refaire chaque jour
Echantillon	20 µL	➔ À tester en fonction de la dilution

ANNEXE 4

Protocole de mesure de l'activité enzymatique de la CK et de l'AK

Préparation des solutions :

Produit	Référence	PM	Concentrat°	Pour 1 mL	Pour 500 mL
HEPES	H3375	238.3	20 mM	4.766 mg	2.383 g
Mg Acetate	M2545	214.5	5 mM	1.072 mg	536 mg
DTT (Dithiothréitol)	D0632	154.2	0.5 mM	0.0771 mg	38.55 mg
Glucose	G7021	180	20 mM	3.6 mg	1.8 g
ADP	A5285 (?)	501.32	1.2 mM	0.6016 mg	300.8 mg
NADP	N0505	765.39	0.6 mM	0.4592 mg	229.6 mg
NAOH				pH = 7.4 à 30°C	
A part :		Dans flacon :	(*)	Pour le mélange :	Dans 5 mL de tp CK-AK :
Hexokinase	H5625	10kU	5 U/mL	1U/mL	3 µL
G6PDH	G7750	2kU	2 U/mL	1U/mL	5.5 µL
PCr	P7936	255.1	500 mM	127.55 mg	

(*) : En rajoutant 2mL pour l'Hexokinase et 1mL pour GD6PDH d'eau déminéralisée !

Procédure :

- Allumer le bain-marie du spectro à 30°C. Vérifier niveau d'eau et que la pompe soit bien branchée.
- Allumer le spectro et régler la longueur d'onde à 340 nm
- Faire le blanc
- Préparer 5mL de tampon CK-AK + 3µL d'Hexokinase + 5.5µL de G6PDH (suivant dilution)
 - Bien mélanger !
 - Garder le tampon, l'Hexo et G6 dans de la glace.
- Mettre 1mL dans cuve témoin et 1mL dans cuve échantillon.

- **BASELINE** 4 ou 5 min pour que les cuves atteignent les 30°C
→ (Pendant ce temps préparer le prochain mélange de tampon CK-AK + Hexo +G6 si besoins)
- **PAUSE**
- Ajouter 10µL d'échantillon dans la cuve « échantillon » après l'avoir vortexé
→ **Bien mélanger** dans la cuve !
- **RE-START**
- Après 4 min (suivant l'allure de la pente) : **PAUSE** et non pas STOP
- Ajouter maintenant 20µL de PCr
→ Bien mélanger !
- **RE-START** : la pente monte encore plus fortement
- Après 4 min ou à l'arrivée de l'asymptote : **STOP**

NB : La dernière pente étant l'activité de CK + AK et la première étant celle de AK, nous obtenons donc celle de CK par soustraction de la 2^{ème} pente moins la 1^{ère}.

ANNEXE 5

Protocole de génotypage des souris miCK

Génotypage par PCR :

Solution réactive				Condition des cycles			
Substance	Unité	Stock	Volume (ul)	Les étapes	Température	Temps (mm:ss)	Cycles
Tampons Immolase	-	10x	2.50	Activation	95°	10:00	
Primair F	uM	10	1.25	Dénaturation	95°	00:30	30
Primair R	uM	10	1.25	Couplage	70-55.5° (-0.5°/cycle)	00:30	
Hyg1	uM	10	1.25	Extension	72°	00:30	
dNTP	mM (ea.)	25	0.20	Final extension	72°	10:00	
Immolase polymerase	U/ul	5	0.20				
MgCl2	mM	50	1.50				
ADN			3.00				
H2O			13.85				
Total			25.00				

Hyg 1 = (5' to 3') : GGCTGGCACTCTGTCGATACCC

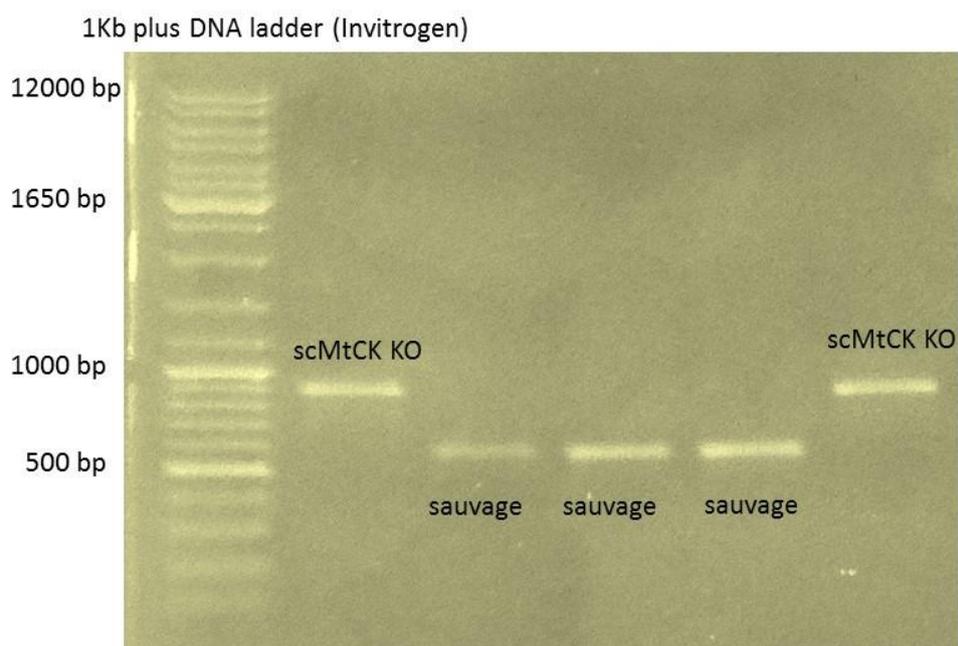
miCK primair :

F primair = miCK-fo1 (5' to 3') : TTGCTAACTGGCCGAAATGC

R primair = miCK 28 (5' to 3') : CATGCCAACTATCACTGTTGTTTCCT

L'ADN venant des souris sauvages ont manifesté une bande à 580 bp et les souris transgéniques miCK ont présenté une bande à 920 bp.

Exemple :



ARTICLES PUBLIES

1. Article 1 : Niel R. et al. 2016.

« A new model of short acceleration-based training improves exercise performance in old mice. »

A new model of short acceleration-based training improves exercise performance in old mice

R. Niel¹ | M. Ayachi¹ | L. Mille-Hamard¹ | L. Le Moyec¹ | P. Savarin² |
M.-J. Clement³ | S. Besse^{1,4} | T. Launay^{1,4} | V. L. Billat¹ | I. Momken¹

¹Unité de Biologie Intégrative des Adaptations à l'Exercice (EA7362), Université Evry-Val d'Essonne, Evry, France

²Laboratoire Chimie, Structures, Propriétés de Biomatériaux et d'Agents Thérapeutiques (CSPBAT), Unité Mixte de Recherche (UMR) 7244, Centre National de Recherche Scientifique (CNRS), Equipe Spectroscopie des Biomolécules et des Milieux Biologiques (SBMB), Université Paris 13, Bobigny, France

³Laboratoire Structure-Activité des Biomolécules Normales et Pathologiques, INSERM U1204 and Université Evry-Val d'Essonne, Evry, France

⁴Université Paris Descartes, COMUE Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Correspondence

Iman Momken, Unité de Biologie Intégrative des Adaptations à l'Exercice, Université d'Evry-Val d'Essonne, Boulevard François Mitterrand, Evry, France.

Email: iman.momken@univ-evry.fr

Funding information

French National Institute for Health and Medical Research (INSERM); University of Evry Val d'Essonne

Abstract

In order to identify a more appealing exercise strategy for the elderly, we studied a mouse model to determine whether a less time-consuming training program would improve exercise performance, enzyme activities, mitochondrial respiration, and metabolomic parameters. We compared the effects of short-session (acceleration-based) training with those of long-session endurance training in 23-month-old mice. The short-session training consisted of five acceleration-based treadmill running sessions over 2 weeks (the acceleration group), whereas the endurance training consisted of five one-hour treadmill sessions per week for 4 weeks (the endurance group). A control group of mice was also studied. In the acceleration group, the post-training maximum running speed and time to exhaustion were significantly improved, relative to pretraining values (+8% for speed, $P < .05$; +10% for time to exhaustion, $P < .01$). The post-training maximum running speed was higher in the acceleration group than in the endurance group (by 23%; $P < .001$) and in the control group (by 15%; $P < .05$). In skeletal muscle samples, the enzymatic activities of citrate synthase, lactate dehydrogenase, and creatine kinase were significantly higher in the acceleration group than in the endurance group. Furthermore, mitochondrial respiratory activity in the gastrocnemius was higher in the acceleration group than in the control group. A metabolomic urine analysis revealed a higher mean taurine concentration and a lower mean branched amino acid concentration in the acceleration group. In old mice, acceleration-based training appears to be an efficient way of increasing performance by improving both aerobic and anaerobic metabolism, and possibly by enhancing antioxidant defenses and maintaining muscle protein balance.

KEYWORDS

aging, creatine kinase, heart, metabolomic, mitochondria, short acceleration training, skeletal muscle, VO_{2max}

1 | INTRODUCTION

Although life expectancy is increasing in developed countries, independence in the elderly has declined and thus constitutes a major public health challenge. Aging is associated with a

decline in physical performance in everyday activities, which in turn is related to declines in functional mobility, walking endurance, and muscle strength. Several parameters influence the age-related reduction in performance. For example, the gradual decline in maximal oxygen uptake (VO_{2max} , an

index of the cardiorespiratory system's ability to deliver oxygen and substrates to exercising muscles) with age is known to be a major predictor of morbidity and mortality.^{1,2}

Factors other than those related to the central cardiorespiratory system are also impaired with age, such as the capacity of mitochondria in cardiac and skeletal muscles to oxidize energy substrates and produce a sufficient ATP flux for contraction. Various researchers have suggested that these alterations are due to enzyme activities involved in tricarboxylic acid cycle (TCA) (such as citrate synthase (CS), the mitochondrial respiratory chain, and/or other mitochondrion-associated enzymes like creatine kinase (CK) and adenylate kinase (AK)).^{3–7} Furthermore, there is some evidence to suggest that oxidative stress and mitochondria DNA damage contribute to the impairment of mitochondrial function and the associated enzyme activities.^{6,8,9}

Additionally, muscle mass declines gradually with age;^{8–10} this might be due to an imbalance between protein synthesis and degradation.¹¹ The decrease in muscle mass might contribute to the age-related reduction in strength and performance.^{1,8,9,10,12}

In humans and rodents, spontaneous physical activity and structured training programs have often been proposed as a means of (a) slowing the age-dependent decline in VO_2max , (b) improving aerobic muscle capacity through mitochondria biogenesis and function, and (c) preventing muscle atrophy.^{12–15} Over recent years, conventional endurance training and high-intensity interval training (HIIT) have been most intensively studied in terms of their effects on health. Both types of training improve performance and well-being in elderly humans and other species.^{14–17}

Low-intensity endurance exercise (eg, five 1-hour sessions per week for at least 4 weeks) is acknowledged to be an effective method for improving cardiac performance and slowing down the age-related decline in VO_2max in humans and mice.^{2,12} This type of long-term endurance training increases the expression of mitochondrion-encoded transcription factors, mitochondrial DNA content, and mitochondrial proteins in muscle.^{12,15,18} However, endurance training has very little impact on muscle mass and strength — even in younger subjects.^{19,20} Furthermore, endurance training is time-consuming and may be constraining for the elderly. More recently, a number of studies have focused on HIIT, in which short periods of high-intensity exercise alternate with short recovery periods. It has been suggested that HIIT prevents muscle atrophy and preserves lean body weight in elderly people (aged 65 or over) but only after 12–24 weeks of training.^{13,16} Moreover, HIIT seems to be more efficient than endurance training for improving performance, with an improvement after just 5 weeks (although lean mass is not apparently affected).^{21,22} Moreover, the sudden, intense accelerations in HIIT may be problematic in the elderly and have not previously been described in elderly mice. Moreover, both

endurance training and HIIT are time-consuming and may be constraining for the elderly. The time required for long-term endurance exercise may demotivate many individuals from performing regular, structured exercise — notably in old age.

We therefore decided to test a new model of short-session training based on twice-weekly sessions with low, moderate, and high accelerations for just 2 weeks. The impact of this acceleration-based training on exercise performance, aerobic and anaerobic metabolism, and metabolomic parameters was evaluated in old mice. We notably compared the acceleration-based training program with the only model to have been well characterized in old mice to date (ie, endurance training).

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Animals

Old male C57Bl6 mice (age: 23 months; $n=36$; Janvier Labs, Le Genest Saint Isle, France) were randomized into control ($n=11$), acceleration-based ($n=14$), and endurance ($n=11$) groups. The animals were housed in groups of three or four per cage in a specific and opportunistic pathogen-free environment (CERFE Genopole, Evry, France) at a temperature of 22°C, with 12 hour-12 hour light-dark cycles and a standard ad libitum diet. Twenty-four hours after the last incremental exercise test, the mice were sacrificed by the intraperitoneal infusion of sodium pentobarbital (100 mg/kg; Sanofi Santé Animale, Paris, France). Urine, heart, and skeletal muscle samples (gastrocnemius, extensor digitorum longus, soleus, and quadriceps) were immediately collected. The urine samples were directly syringed from the bladder and were stored at -80°C prior to use. All protocols were approved by our institution's Animal Care and Use Committee and complied with the Council of Europe's convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. All tests and training sessions were performed by the same operator.

2.2 | Training protocols

Before initiation of the different training protocols, all the mice were familiarized with the treadmill (1050-G3-Exer 3/6, Columbus Instruments, OH, USA) over a one-week period. The familiarization started with a $3\text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ run for 10 minutes. The acceleration was gradually increased to no more than $10\text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ (to avoid a training effect) for 10 minutes on the last day. After the familiarization and pretests, the mice in the acceleration group performed five training sessions over a 2-week period. Each session consisted of a slow acceleration ($3\text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$), a moderate acceleration ($6\text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$), and a fast acceleration ($12\text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$), with 30 minutes of rest between each effort (Figure 1A). The treadmill slope was set to 0° . The training session was stopped if the mice

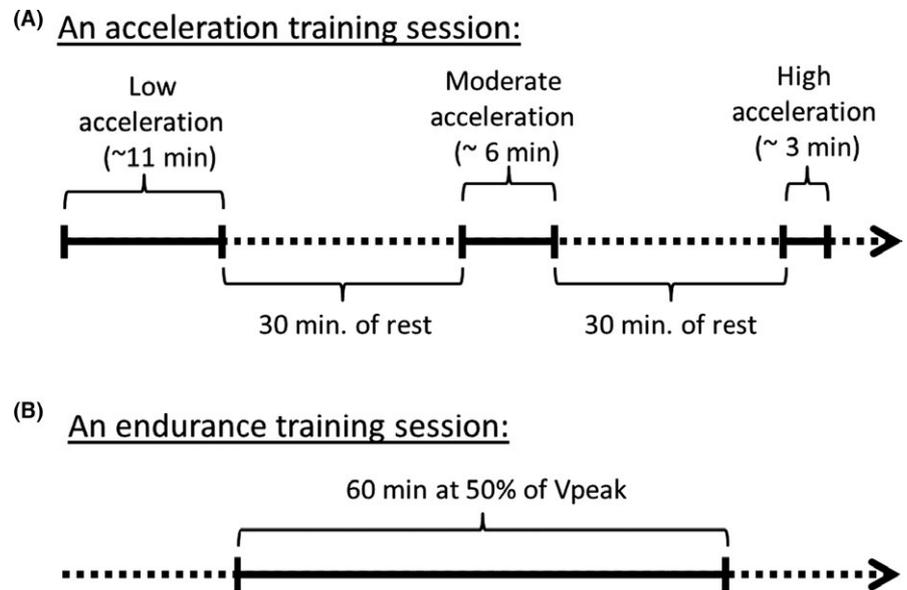


FIGURE 1 Acceleration-based and endurance training protocols. Schematic diagram of the acceleration-based (A) and endurance (B) training sessions in mice

reached exhaustion. Treadmill control software (Exer 3/6, Columbus Instruments) was used to automatically schedule the accelerations.

The endurance training consisted of a 1-h treadmill session on 5 days a week for 4 weeks. The intensity was set to 50% of the maximum running speed (V_{peak}). For the endurance group as a whole, the average V_{peak} was 28 m min^{-1} . The slope was again set to 0° (Figure 1B). To adjust the exercise intensity for each mouse, individual V_{peak} values (the highest speed that a mouse was able to maintain for at least 30 seconds) were determined in an incremental exercise test before the training and after the first and second weeks of training. The control mice performed 10 minutes of running at 10 m min^{-1} twice a week, so that they merely became accustomed to running on the treadmill and being handled. Familiarization and training sessions were carried out on a treadmill equipped with a low-voltage electric grid (1.4 mA at a frequency of 2 Hz) to encourage the mice to run; in the event of contact, the grid caused an unpleasant shock but did not hurt the animal.¹ All the mice ran at the same time of day.

2.3 | The incremental exercise test

Before and after the different training sessions, the mice in the acceleration, endurance, and control groups underwent an incremental exercise test. To enable a better comparison with the acceleration group, the endurance group underwent an incremental test after 2 weeks of training and then after 4 weeks (ie, once the training period had finished). These tests were carried out on a one-lane treadmill equipped for gas exchange measurements (Modular Enclosed Metabolic Treadmill for Mice, Columbus Instruments). After 8 minutes of recording at rest, the treadmill velocity was increased by 3 m min^{-1} every 3 minutes until the mice were exhausted (defined as the moment when the mouse remained in contact

with the electric grid for 5 seconds). Gas samples were taken every 5 seconds and dried prior to measurement of the oxygen fraction with a gas analyzer (Columbus Instruments). Oxygen uptake (VO_2) was calculated, as previously reported.²³ To enable comparison with data on humans, VO_2 was expressed relative to the bodyweight raised to the power -0.75 . We evaluated performance in terms of V_{peak} and the time to exhaustion. The blood lactate concentration was measured in a drop of blood from the tail vein 5 minutes after each incremental test, using the Lactate Pro LT-1710 meter (Arkray Inc., Kyoto, Japan).

2.4 | Mitochondrial respiration

The basal (V_0) and maximal (V_{max}) mitochondrial respiration rates in the total mitochondrial population were studied in situ in saponin-permeabilized heart and skeletal muscle fibers from mice in the acceleration, endurance, and control groups, using Kuznetsov *et al.* method.²⁴

The respiratory chain in the inner mitochondrial membrane contains four enzymatic complexes (I-IV). The complexes are coupled to ATP synthase (complex V), which phosphorylates ADP to ATP. The complexes catalyze the transfer of reducing equivalents from high-energy compounds (produced in the Krebs cycle) to oxygen; the production of an electrochemical gradient across the inner mitochondrial membranes drives the synthesis of ATP by ATP synthase. In this study, we determined ADP kinetic parameters as a function of the muscle type. ADP-stimulated (V_{ADP}) respiration above V_0 was plotted against [ADP]. Respiratory rates were determined with a Clark electrode (Strathkelvin Instruments, Motherwell, UK) in an oxygraphic cell containing 15–20 fiber bundles in 3 mL of R solution (composition below) at 22°C with continuous stirring. The solubility of oxygen was taken to be $230 \mu\text{mol O}_2/\text{L}$.

After muscle isolation, fiber bundles (100–250 μm in diameter) were excised from white gastrocnemius, soleus, and heart and were separated into small bundles under a laboratory magnifying glass. The bundles were incubated for 30 minutes with intense shaking in S solution (composition below) containing 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ saponin (to permeabilize the sarcolemma). Once the fibers had been permeabilized, they were transferred to R solution (composition below) for 10 minutes in order to wash out adenine nucleotides and phosphocreatine. All procedures were carried out at 4°C. Both S and R solutions contained 10 mM EGTA/Ca-EGTA buffer (free Ca^{2+} concentration, 100 nM), 3 mM free Mg^{2+} , 20 mM taurine, 0.5 mM DTT, and 20 mM imidazole. The ionic strength was adjusted to 0.16 M by addition of potassium methanesulfonate. S solution (pH 7.1) also contained 5 mM MgATP and 15 mM phosphocreatine. Just before the experiment was started, fatty acid-free bovine serum albumin was added (final concentration: 2 mg/mL) to the R solution (pH 7.1).

The initial mitochondrial respiration rate (V_i) was determined by placing the fiber bundles into the respiratory substrate in the absence of ADP. Next, ADP was added and the submaximal ADP-stimulated respiration rate (V_{ADP}) was determined. Lastly, after further addition of ADP (final concentration: 2 mM), the maximum respiration rate (V_{max}) was measured. The V_{ADP} was calculated by nonlinear fitting to the Michaelis-Menten equation. V_{max} was the sum of $V_{\text{ADP}} + V_0$. The acceptor control ratio (ACR) was defined as V_{max}/V_0 ; this is a sensitive indicator of general mitochondrial function and represents the difference between the mitochondrial functions in the presence and the absence of ADP. After respiration measurements, the bundles were removed and dried. The respiration rates were expressed in μmoles of O_2 per minute per mg dry weight.

2.5 | Enzyme assays

Frozen tissue samples were homogenized in ice-cold buffer (50 mg/mL) containing (in mmol/L) HEPES 5 (pH 8.7), EGTA 1, DTT 1, and MgCl_2 5 with 0.1% Triton X-100 and incubated for 60 minutes at 0°C to ensure complete enzyme extraction. The total activities of AK, CK, and lactate dehydrogenase (LDH) were assayed (30°C, pH 7.5) using coupled enzyme systems.²⁵ Briefly, CS activity was measured in terms of the production of 2-nitro-5-thiobenzoate (measured spectrophotometrically at 412 nm) by the reaction between 5', 5'-dithiobis 2-nitrobenzoic acid and CoA-SH. Total AK and CK activities were determined using a coupled glucose-6-phosphate dehydrogenase/hexokinase enzyme assay, which produced NADPH (measured spectrophotometrically at 340 nm). To obtain total CK activity, AK activity was subtracted from the total activity.

2.6 | NMR spectrometry

Urine samples were thawed at room temperature. A 100 μL aliquot of urine was placed in an NMR capillary tube. An aliquot of deuterium oxide (for field locking) was placed in the capillary tube holder. The proton spectra were acquired at 600 MHz on a Bruker Avance spectrometer with a reversed cryoprobe. The temperature was set to 294 K. The free induction decays (FIDs) were acquired using a NOESY1D sequence for water suppression, with a preacquisition delay of 2 seconds, a 100 ms mixing time, and a 90° pulse. The FIDs were collected to 64K complex points in a spectral window of 6600 Hz and 64 transients after four silent scans. The FIDs were processed with NMRpipe software.²⁶ The dataset was Fourier-transformed with an exponential function (producing 1 Hz line broadening). The spectra were phased, and baseline correction was performed using the segment method and three points at 0, 5, and 9 ppm. Each dataset was calibrated using the creatinine signal at 3.05 ppm. The spectrum between 0 ppm and 9.5 ppm was divided into 9500 spectral buckets of 0.001 ppm, using an in-house program written with R software. Each bucket was labeled with its median chemical shift value. The water region (between 4.6 and 5 ppm) was excluded from the data matrix. The bucket intensities were normalized using the probabilistic quotient technique,²⁷ to obtain the X matrix for statistical analysis. Unit variance scaling was performed on all variables prior to a multivariate statistical analysis, and spectra were aligned using the icoshift method²⁸ to correct for the effect of pH on the metabolites' chemical shifts.

2.7 | Statistical analysis

Performance-related and biochemical data were quoted as the mean \pm SEM, and the threshold for statistical significance was set to $P < .05$. A one-way analysis of variance was used to study the overall effect of training. If significant differences ($P < .05$) were present, *post-hoc* comparisons were performed using the Holm-Sidak method or (for non-normally distributed data) a Kruskal-Wallis test. Intergroup and pre-post comparisons were, respectively, performed with a two-tailed, unpaired Student's *t* test and a paired Student's *t* test. A nonparametric Mann-Whitney test was used for non-normally distributed data. Correlations were analyzed with Spearman's coefficient.

For the multivariate analysis of NMR data, a principal component analysis (PCA) was first used to detect the separation between the three groups of mice (based on the NMR signal variability and outliers). An orthogonal projection on latent structure (OPLS) model (based on Trygg and Wold's method) was computed for the X matrix, in order to identify differences between sample spectra related to external factors such as the type of training (acceleration, endurance, or

TABLE 1 Anatomic parameters just before the pre- and post-tests

	Acceleration (n=14)	Control (n=11)	Endurance (n=11)
Mean BW before the pretest (g)	33.76 ± 0.52	34.96 ± 1.00	32.65 ± 0.68
Mean BW before the post-test (g)	33.21 ± 0.50*	34.93 ± 1.08	31.97 ± 0.62
Soleus (mg.g ⁻¹ of BW)	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.04	0.30 ± 0.02
EDL (mg.g ⁻¹ of BW)	0.42 ± 0.02	0.37 ± 0.03	0.36 ± 0.02
Tibialis (mg.g ⁻¹ of BW)	1.40 ± 0.08	1.37 ± 0.07	1.29 ± 0.05
Heart (mg.g ⁻¹ of BW)	4.95 ± 0.13	5.00 ± 0.20	5.50 ± 0.026
Liver (mg.g ⁻¹ of BW)	52.44 ± 2.42	49.62 ± 3.50	51.01 ± 1.28

EDL, extensor digitorum longus; BW, body weight. $P < .05$ vs pretest in the same group. Values are quoted as the mean ± SEM.

control) and biochemical parameters. The PCA and the OPLS analysis were performed using an in-house program coded in MATLAB (MathWorks, Natick, MA), as previously used by.²⁹

The quality parameters for the OPLS model were assessed by calculating R2Y and Q2Y. R2Y represents the variance explained by the Y matrix. Q2Y (computed with the “leave one-out” method) provides an estimate of the model’s predictability. R2Y=1 indicates perfect description of the data by the model, and Q2Y=1 indicates perfect predictability. For internal validation of the OPLS models, a permutation test (with 999 permutations) was performed. This test established whether the OPLS model built with the groups was significantly better than any other OPLS model obtained by randomly permuting the original group attributes.

The results were presented as a score plot and a loading plot. In the score plot, the different sample spectra were projected onto the model’s predictive (T_{pred}) and orthogonal (T_{orth}) components. The loading plot represented the covariance between the Y-response matrix and the signal intensity of the various spectral domains. Colors were also used in the loading plot, depending on the R value associated with the

correlation between the corresponding bucket intensity and Y variable. A metabolite was considered to be a discriminating factor when the bucket had an R value of at least .5.

3 | RESULTS

3.1 | Anatomic data

After five training sessions, the only significant mean decrease in body weight (by 2%, $P < .05$) was observed in the acceleration group (Table 1). No pre-post differences in weight were found for skeletal muscles, the heart, or the liver (Table 1).

3.2 | Characteristics of the exercise protocols

The total exercise duration and total running distance were three times lower in the acceleration-based training program than in the endurance training program (Figure 2). The maximum speed reached in each session of training was three times higher in the acceleration-based training program than in the endurance training program (Figure 2).

3.3 | Performance and VO₂max

During the five training sessions of acceleration, V_{peak} progressively increased (Figure 3; $P < .001$ for the three accelerations). For the slow acceleration, V_{peak} increased significantly at the third training session ($P < .01$) when compared with the first session. Although V_{peak} increased significantly at the second training session (relative to the first session) for the moderate acceleration ($P < .01$), it only increased after the fourth training session for the fast acceleration ($P < .01$).

A significant overall training effect on V_{peak} was also observed during the incremental test in the acceleration group (Figure 4; $P < .0001$). This increase in V_{peak} between

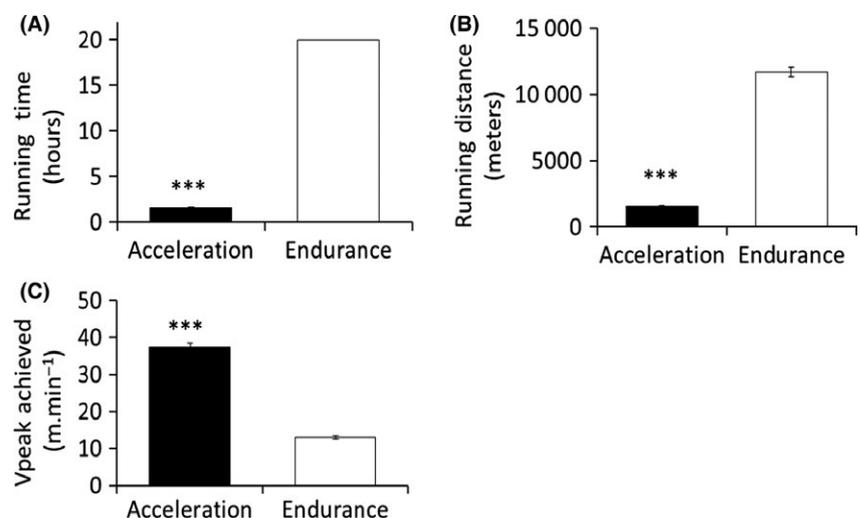


FIGURE 2 Total running time, total running distance, and maximum speed for the acceleration-based and endurance training sessions. Total running time (A), total running distance (B), and maximum speed (C) achieved by the acceleration-trained and endurance-trained mice. *** $P < .001$ vs the endurance group

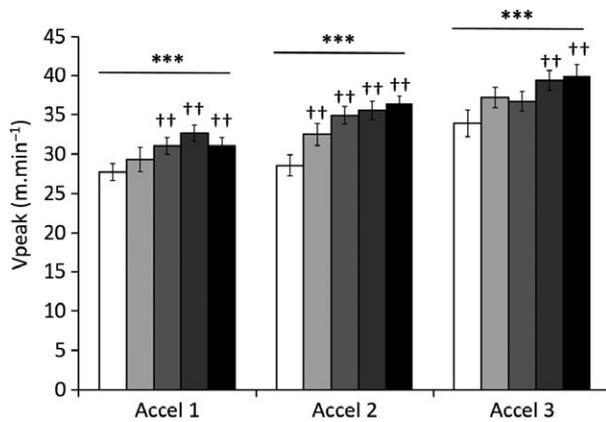


FIGURE 3 Maximum speed achieved during the acceleration-based training sessions. Change in V_{peak} achieved during the acceleration-based training sessions. Accelerations 1, 2, and 3 were carried in each session ($3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$, $6 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$, and $12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$, respectively). *** $P < .001$ indicates a training effect in an analysis of variance, †† $P < .01$ vs the first session of training

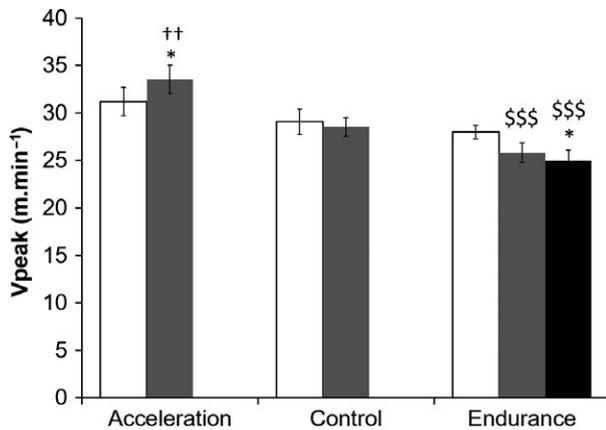


FIGURE 4 Maximum speed achieved in pre- and post-incremental tests. V_{peak} achieved in incremental pretests and post-tests for mice in the acceleration group ($n=14$), the control group ($n=11$), and the endurance group ($n=11$). White bars represent pretest values, gray bars are post-test values after 2 weeks of training, and black bars are post-test values after 4 weeks of training. * $P < .05$ between pre- and post-tests for the same group, †† $P < .01$ vs the control group, \$\$\$ $P < .001$ vs the acceleration group

pre- and post-tests was only observed in the acceleration group (Figure 4; $P < .05$). In the endurance group, the V_{peak} after four training weeks was lower than the pretest value (Figure 4; $P < .05$). The V_{peak} in the control group did not change significantly (Figure 4). An intergroup comparison showed that V_{peak} in the post-test was significantly higher ($P < .01$) in the acceleration group than in the control group. During the post-test, V_{peak} was higher in the acceleration group than after 2 ($P < .001$) and 4 ($P < .001$) weeks of training in the endurance group.

Acceleration-based training was also associated with an increase in the time to exhaustion (22.82 ± 1.45 minutes in the pretest and 25.05 ± 1.54 minutes in the post-test; $P < .01$).

In the endurance group, the time to exhaustion did not change significantly after 2 weeks of training (16.9 ± 1.15 minutes vs 19.41 ± 0.71 minutes in pretest) but then fell significantly after 4 weeks of training (16.61 ± 0.96 minutes; $P < .01$ vs the pretest value). The time to exhaustion in the control group did not change significantly (20.7 ± 1.36 minutes in the pretest and 19.55 ± 0.91 minutes in the post-test). The maximal oxygen uptake (VO_{2max}) in the pretest was similar in all study groups and did not change in the post-test in the endurance and acceleration groups (relative to the change in the control group). In the pretest, VO_{2max} was $52.79 \pm 1.08 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$, $52.13 \pm 1.46 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$, and $51.87 \pm 0.89 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$ in the acceleration, control, and endurance groups, respectively ($P = \text{nonsignificant (NS)}$ for all). In the post-test performed after 2 weeks, the VO_{2max} values were $53.98 \pm 1.22 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$, $53.65 \pm 1.30 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$, and $52.47 \pm 1.40 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$ in the acceleration, control, and endurance groups, respectively ($P = \text{NS}$ for all). In the endurance group, the VO_{2max} in the post-test after 4 weeks of training was $51.74 \pm 1.16 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{0.75}$, which did not differ from the VO_{2max} in the pretest or in the post-test after 2 weeks of training.

3.4 | Blood lactate concentration

The post-test blood lactate concentration was significantly higher in the acceleration group than in the control group ($P < .05$) and the endurance group after 2 ($P < .001$) and 4 ($P < .001$) weeks of training (Figure 5). The endurance group had a lower blood lactate concentration than the control group after 2 ($P < .05$) and 4 ($P < .01$) weeks of training (Figure 5). Furthermore, the blood lactate concentration was higher in the post-test than in the pretest for mice in

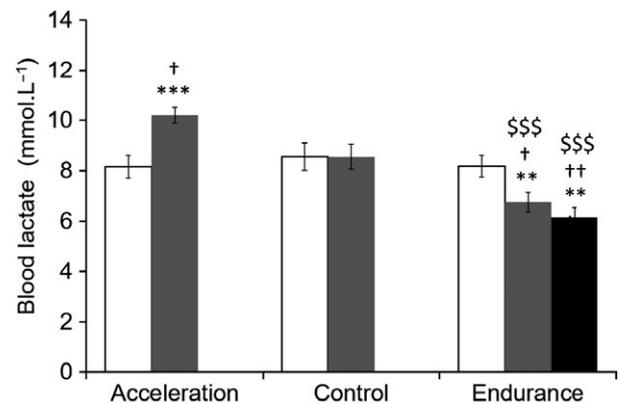


FIGURE 5 Blood lactate concentration, 5 minutes before and after the incremental tests. Blood lactate concentration measured 5 minutes after triangular pre and post-test, for mice in the acceleration group ($n=14$), the control group ($n=11$), and the endurance group ($n=11$). White bars represent pretest values, gray bars are post-test values after 2 weeks of training, and black bars are post-test values after 4 weeks of training. ** $P < .01$ *** $P < .001$ vs pretest, † $P < .05$ †† $P < .01$ vs the control group post-test, \$\$\$ $P < .001$ vs the acceleration group post-test

TABLE 2 Effect of different types of training on enzyme activity of citrate synthase, lactate dehydrogenase, creatine kinase, and adenylate kinase in heart and quadriceps

	Heart			Quadriceps		
	Acceleration (n=14)	Control (n=11)	Endurance (n=11)	Acceleration (n=14)	Control (n=11)	Endurance (n=11)
Citrate synthase (IU.mg ⁻¹ of protein)	0.97 ± 0.05	0.92 ± 0.06	0.875 ± 0.04	0.35 ± 0.07 ^{§,†}	0.28 ± 0.03	0.235 ± 0.02
Lactate dehydrogenase (IU.mg ⁻¹ of protein)	0.83 ± 0.05	0.80 ± 0.07	0.86 ± 0.04	3.09 ± 0.21 ^{§§}	2.77 ± 0.20	2.29 ± 0.13
Creatine kinase (IU.mg ⁻¹ of protein)	3.66 ± 0.25 ^{§§}	3.06 ± 0.34	2.785 ± 0.09	14.87 ± 0.98 ^{§§§}	13.20 ± 1.28	9.52 ± 0.41 [†]
Adenylate kinase (IU.mg ⁻¹ of protein)	1.40 ± 0.12 [†]	1.02 ± 0.13	1.34 ± 0.15	1.48 ± 0.11	1.35 ± 0.12	1.25 ± 0.06

Values are quoted as the mean ± SEM. [†]*P*<.05 vs the control group, [§]*P*<.05; ^{§§}*P*<.01; ^{§§§}*P*<.001 vs the endurance group.

the acceleration group. Conversely, the post-test blood lactate concentration was lower in the endurance group after 2 (*P*<.01) and 4 (*P*<.001) weeks of training, compared with the pretest (Figure 5). The lactate concentrations did not differ significantly in the control group (Figure 5).

3.5 | Enzyme activity

The CS and LDH activities in skeletal muscle (quadriceps) samples in the acceleration group were significantly higher (CS: *P*<.01, LDH: *P*<.01) than in the endurance group (Table 2). Moreover, CS activity (*P*<.05) in quadriceps was higher in the acceleration group than in the control group (Table 2). The CK activity in both the heart and skeletal muscles was significantly higher in the acceleration group than in the endurance group but not when compared with the control group (Table 2). Furthermore, the CK activity in the quadriceps sample was lower in the endurance group than in the control group (*P*<.05) (Table 2). Lastly, the AK activity in the heart was higher in the acceleration group than in the control group (*P*<.05), although there was no difference in skeletal muscle samples (Table 2).

3.6 | Mitochondrial respiration

The maximum mitochondrial respiration rate in heart was not influenced by any of the training programs. However, the basal mitochondria respiration decreased significantly in both the endurance (*P*<.05) and acceleration (*P*<.05) groups (Figure 6A). Accordingly, both types of training had an impact on the ACR (*P*<.001), which was significantly higher for the endurance (*P*<.01) and acceleration (*P*<.01) groups than for the control group (Figure 6A).

In white gastrocnemius samples, only acceleration-based training was associated with a significant increase in the maximum mitochondrial respiration rate (*P*<.05) and the ACR (*P*<.001) relative to the control group (Figure 6B). In soleus samples, the mitochondrial respiration rate did not significantly change over time or differ between the groups (data not shown).

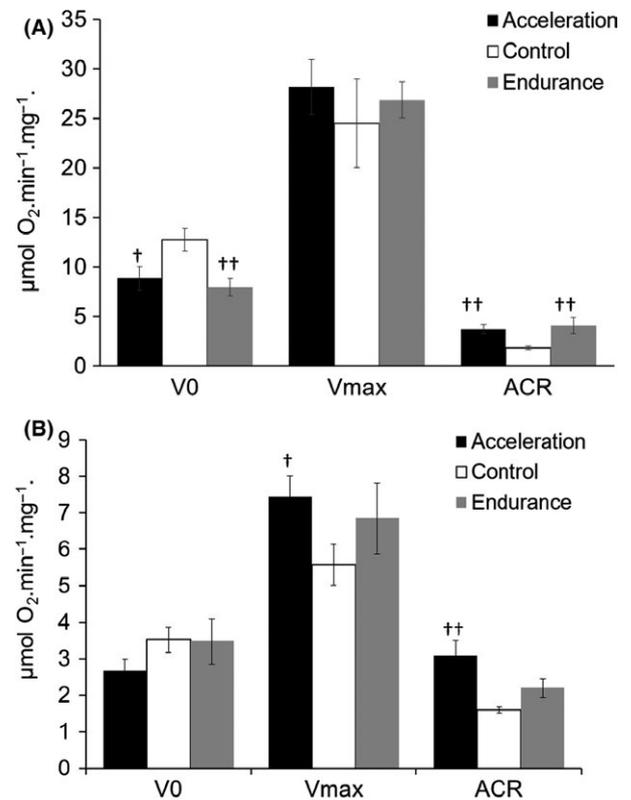


FIGURE 6 Maximal oxygen consumption and the acceptor control ratio in the heart and in the gastrocnemius. The effect of training on mitochondrial respiration in the heart (A) and the gastrocnemius (B), represented by V₀, V_{max} and the acceptor control ratio (ACR) in the acceleration group (n=13), the control group (n=9), and the endurance group (n=10). Black bars represent acceleration group values, white bars are control group values, and gray bars are endurance group values. [†]*P*<.05; ^{††}*P*<.01 vs controls

3.7 | Metabolomics

A pairwise PCA of the acceleration, control, and endurance groups did not reveal any outliers. Consequently, all samples were included in the OPLS analysis. The OPLS-based comparison of the acceleration group and the control group (Figure 7A) showed acceptable R²Y and Q²Y values (0.978 and 0.5 ppm, respectively), given the number of samples and

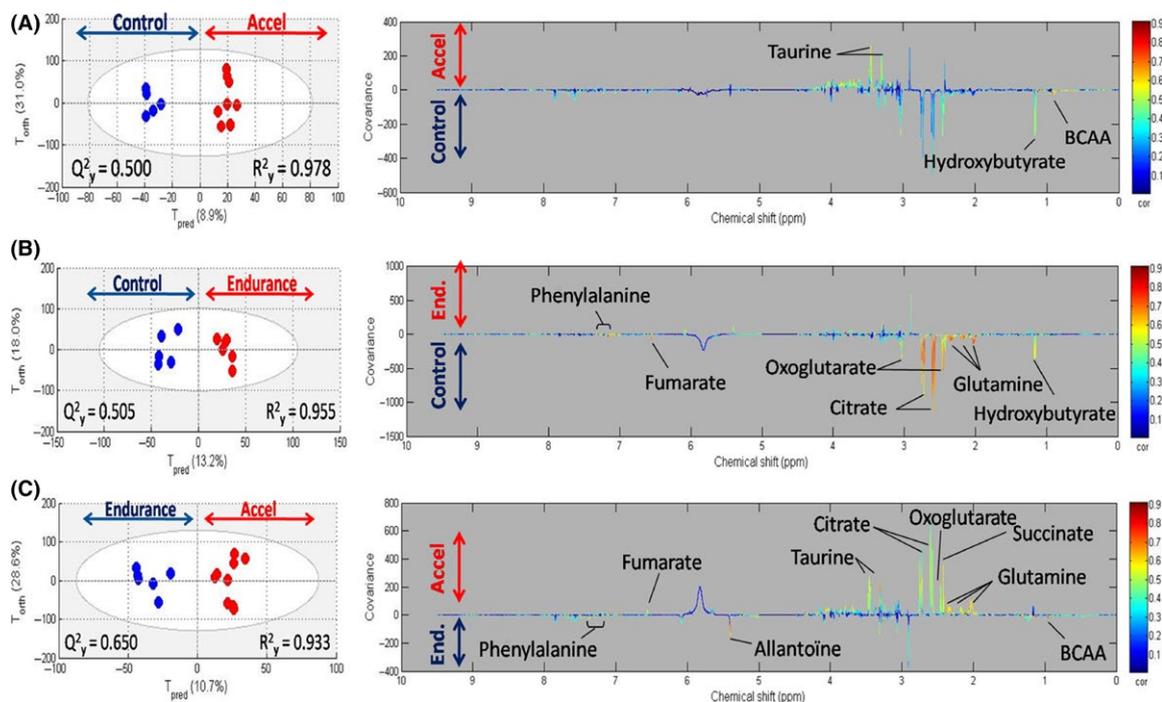


FIGURE 7 Discriminant metabolites in the urine samples. Score plot and loading plot from the OPLS model obtained with urine samples from the control group (blue dots, $n=5$) and the acceleration group (red dots, $n=9$) (A). Score plot and loading plot from the OPLS model obtained with urine samples from the control group (blue dots, $n=5$) and the endurance group (red dots, $n=6$) (B). Score plot and loading plot from the OPLS model obtained with urine sample from the endurance group (blue dots, $n=6$) and the acceleration group (red dots, $n=6$) (C). Variations in metabolites are represented as a line plot between 0 and 9.5 ppm. Positive signals correspond to higher urine metabolite concentrations for the group represented by red dots. Conversely, negative signals correspond to higher urine metabolite concentrations for the group represented by blue dots. Each score plot is represented by Q^2 and R^2 values, and all discriminant metabolites ($r > .5$) are indicated on the corresponding loading plot. The colors correspond to the r correlation coefficient

considering that the model has been validated by permutation. The loading plot demonstrated that the most discriminant metabolites were the branched-chain amino acids (BCAAs; 0.91 and 0.96 ppm), hydroxybutyrate (a doublet at 1.16 ppm), and taurine (triplets at 3.29 and 3.46 ppm). As shown in the loading plot (Figure 7A), the urine level of taurine was higher in the acceleration group than in the control group, whereas the levels of BCAAs and hydroxybutyrate were lower.

When comparing the endurance and control groups (Figure 7B), the OPLS model had acceptable R^2Y and Q^2Y values (0.955 and 0.505 ppm, respectively, as validated by permutation). The loading plot showed that the most discriminant metabolites were TCA substrates such as oxoglutarate (a triplet at 2.45 and 3.03 ppm), citrate (2.59 and 2.74 ppm), fumarate (6.55 ppm), and hydroxybutyrate. Several amino acids—such as glutamine and glutamate (multiplets at 2.06 and 2.38 ppm) and phenylalanine (multiplet between 7.28 and 7.37 ppm)—were also correlated. Levels of the TCA substrates hydroxybutyrate and glutamine-glutamate were lower in the endurance group samples than in the control group samples. Phenylalanine was the only metabolite found at a higher level in the endurance group than in the control group, as shown in the loading plot (Figure 7B).

A comparison of the spectra from the endurance and acceleration groups (Figure 7C) yielded the highest R^2Y

and Q^2Y values (0.933 and 0.650, respectively) in an OPLS model. The loading plot showed that the most discriminant metabolites were the BCAAs, TCA substrates (such as succinate (2.42 ppm), oxoglutarate, citrate, and fumarate) and also glutamine-glutamate, taurine, allantoin (5.40 ppm), and phenylalanine. As shown in the loading plot (Figure 7C), urine levels of the TCA substrates glutamine-glutamate and taurine were higher in the acceleration group than in the endurance group. Conversely, urine levels of BCAA, allantoin, and phenylalanine were lower in the acceleration group samples than in the endurance group samples.

4 | DISCUSSION

The objective of the present study was to evaluate the effect of a new model of short-session training on (a) performance, (b) metabolic adaptations in skeletal and heart muscle, and (c) metabolomic profiles in old mice.

Our choice of a new training program (intended to improved performance with short sessions) was based on a number of observations and hypotheses. Firstly, the three main energy production pathways (ie, aerobic, alactic anaerobic, and lactic anaerobic pathways) are involved to almost the same in this acceleration-based training

program. Secondly, the maximum speed is reached progressively; this contrasts with HIIT—even though the latter has been described as being more effective than the endurance training;^{21,30} this progressiveness is important, especially in elderly participants. Thirdly, acceleration-based training only requires a small number of short training sessions per week.

Our main finding was that performance (V_{peak} and time to exhaustion) improved in the mice in the acceleration group. These increases were associated with changes in the markers for the three main energy production pathways.

4.1 | The value of this new training model

The major advantage of this new acceleration-based training program is the short overall duration of training (5 sessions over 2 weeks, with a total training time of 1h36 m). In contrast to long-session training programs, there is no need to judge the training intensity by performing regular tests. Indeed, most existing training programs require a weekly re-evaluation of performance to adjust the training dose (intensity/interval); this test can be exhausting, especially in the elderly. Moreover, the acceleration-based training model includes low-, moderate-, and high-intensity training and might therefore influence all the various energy metabolism pathways. In contrast to HIIT, the maximum speed is reached progressively; this is of major value in old mice. Lastly, acceleration-based training is a self-paced program with no obligation for the subject to attain a defined distance or duration.

The acceleration-based training significantly increased V_{peak} and the time to exhaustion in old mice after only five training sessions. In contrast, conventional endurance training was not associated with an increase in these parameters after 2 weeks of training and even a slight decrease in performance after 4 weeks of training. It is possible that mice become accustomed to a low running speed during endurance training; along with their old age, this could negatively influence their performance at a high-intensity. VO_2max did not change in the endurance group (as previously described for short overall training periods²³) or the acceleration group (which is not surprising, after only five training sessions over 2 weeks). Further studies with more weeks of acceleration-based training are clearly required to determine the effect of this new training regimen on VO_2max .

4.1.1 | Anaerobic metabolism

The higher blood lactate level in the acceleration group suggests that these mice resisted muscle acidosis better than the mice in the other two groups. Indeed, the high speeds reached during acceleration-based training may have increased the contribution of the anaerobic pathway to the energy supply; consequently, the mice in the acceleration group might

have become accustomed to a high blood lactate level. Additionally, we observed a higher level of LDH activity in skeletal muscle samples from the acceleration group than in the endurance group (but not in the control mice). Studies have shown that endurance training diminishes the LDH activity in the skeletal muscle of elderly humans and rats;^{31,32} this might explain the presence of a significant difference in LDH activity between endurance mice and acceleration mice.

Moreover, a recent review³³ emphasized the need to study alterations in the kinetics of energy fluxes of aged muscle. These changes have been underestimated in studies of the age-related decline in performance. In the present study, the AK activity in heart muscle samples was higher for the acceleration group than for the control group. AK is an important phosphoryltransfer enzyme, which catalyzes the reaction producing ATP and AMP from two molecules of ADP. A close relationship between AK on one hand and mitochondrial respiration, myofibrillar and membrane ATPases, and metabolic sensors on the other have been reported.^{34,35} During exercise and under high-energy demand conditions, AK provides additional energy.^{34,35} The CK activity in skeletal muscles was higher in the acceleration group than in the endurance group. One reason for better performance in the acceleration group could be better energy production and energy flows in the muscles.³³ Achieving a high exercise intensity during training is probably important, which is in agreement with Tabata *et al.*³⁶ report in which 6 weeks of HIIT in young human adults was associated with an increase in both anaerobic capacity and VO_2max (whereas 6 weeks of moderate-intensity endurance training did not affect anaerobic capacity). Likewise, Rodas *et al.*³⁷ demonstrated that HIIT had effects on both aerobic and anaerobic energetic pathways. Taken as a whole, these results suggest that acceleration-based training may have a greater impact than endurance training on the anaerobic pathway and thus on exercise performance in old mice.

4.1.2 | Aerobic metabolism

Despite the absence of a change in VO_2max , the acceleration-based training improved aerobic metabolism in heart and skeletal muscles. The mitochondrial respiratory capacity and CS activity increased in the acceleration group. A number of studies of training intensity in humans, rats, and mice have found that high-intensity training produces a significantly greater benefit in aerobic capacity than moderate-intensity training does.^{30,38,39} Indeed, it was suggested that the age-related decrease in performance was related to mitochondrial dysfunction and consequently lower levels of muscle aerobic capacity and energy production.⁴⁰ In the present study, the CS activity in skeletal muscle increased more in the acceleration group than in the endurance and control groups; this

is in line with previous studies, showing that mitochondrial enzyme adaptations occur fairly rapidly during training in human and rodent muscles. This could also mean that aerobic metabolism adapts by increasing the mitochondrial content.^{8,9,19,41} We also observed that the maximum mitochondrial respiratory capacity (V_{\max}) in the presence of ADP in the gastrocnemius was higher in the acceleration group than in the control and endurance groups. Unexpectedly, endurance training had no effect on the maximum mitochondrial respiratory capacity or the CS activity in skeletal and heart muscles.^{18,19,41} Therefore, acceleration-based training seems to result in a better adaptation in aerobic metabolism (which occurs mainly in skeletal muscle and not in the heart) than endurance training does. This difference between heart and skeletal muscle might be due to the short training period (less than 4 weeks) or the presence of sufficient oxidative capacity for meeting the energy requirement during training. Indeed,⁴² and,⁴³ respectively, reported that CS activity increased in skeletal muscles (but not in the heart) after endurance training and after HIIT.

4.2 | Evidence for improved antioxidant capacity

Even though the maximum mitochondrial respiratory capacity did not change, the ACR (V_{\max}/V_0) value in heart muscle was higher in the acceleration and endurance groups than in the control group. Likewise, the ACR in the gastrocnemius was higher in the acceleration group than in the control group. This was mainly related to the effect of training, which lowered V_0 in the heart and skeletal muscles. Other studies have reported a lower ACR in skeletal muscles and in rat cardiomyocytes in elderly rats (and even in physically active ones)^{3,44}—suggesting that a slight uncoupling of oxidative phosphorylation occurred in the hearts of the mice in the control group. It has been reported that mitochondrial energetics are impaired in the skeletal muscles of old rats and mice.^{3,8,9,45} Figueiredo *et al.* have shown that the decline in mitochondrial function in skeletal muscle is significantly correlated with higher levels of mitochondrial oxidative damage, and it is well known that the production of reactive oxygen species (ROS) increases with age.^{6,8,9} One can therefore hypothesize that five sessions of acceleration-based training or 20 sessions of endurance training were able to reverse this slight mitochondrial uncoupling by reducing ROS production and/or increasing anti-oxidative enzyme activities in the heart—an important factor in sustainable performance.

Furthermore, our metabolomics analyses revealed a higher urine taurine concentration in the acceleration group than in the two other groups—suggesting greater taurine production and availability. The antioxidant taurine is known for its ability to reduce free radical levels. Mice lacking the taurine transporter display poor physical performance.⁴⁶ In

the endurance group, a high urine taurine level only appeared after 4 weeks of training. Consequently, the acceleration-based training was probably more beneficial than endurance training in terms of improving antioxidant defenses in old mice. However, further studies are needed to elucidate the effect of acceleration-based training on antioxidant defenses.

Several studies of rodents and humans have shown that the progression of sarcopenia is associated with impaired muscle metabolism during aging.^{8,9,14,47} Muscle protein metabolism is characterized by a balance between the synthesis and breakdown of proteins. The NMR analysis showed that urine BCAA concentrations were lower in the acceleration group than in the two other groups. Furthermore, levels of the degradation products of BCAAs (such as phenylalanine and allantoin) were no higher in the acceleration group than in the two other groups. This finding might suggest the initiation of protein synthesis and/or better maintenance of protein turnover (synthesis and degradation) in mice in the acceleration group.

Our metabolomic analysis also revealed a lower hydroxybutyrate (ketone body) level in both the trained group, relative to the control group. Hydroxybutyrate is a marker of lipid use as an energy supply.⁴⁸ Our results indicate that lipid use for energy production was more efficient in the endurance and acceleration groups than in the control group. Further investigations are needed to specify the different pathways involved in better lipid use in our new training model.

5 | CONCLUSION AND PERSPECTIVES

In conclusion, the present findings demonstrated that acceleration-based training in old mice was associated with better performance and was more efficient than endurance training. Furthermore, acceleration-based training may have led to better adaptations of both aerobic and anaerobic metabolism and the possible improvement of antioxidant defenses, insulin sensitivity, and protein synthesis. Low-intensity endurance training would not enable the development of anaerobic metabolism, which is essential at any age and for all types of activity. High-intensity interval training is not appropriate for older humans or mice. Therefore, acceleration-based training seems to be a good, rapidly acting compromise. Given the need to promote exercise and healthy aging in the elderly, a short-session training program (such as acceleration-based training) might improve uptake and adhesion.

Although the present study demonstrated the efficiency of a short-session, acceleration-based training regimen in old mice (with enhanced performance and changes in all three energy production systems), further studies are required to determine the long-term effects of this type of training on

the myocardium and skeletal muscle during aging. Indeed, 2 weeks of this short-session training maintained (but did not increase) VO_2max . It remains to be seen whether a longer period of acceleration could also improve VO_2max at all ages. If so, this new training program could be applied not only in elderly adults but also in sedentary and/or obese young adults who have difficulty in adhering to training programs. This new acceleration-based training regimen might be both clinically effective and cost-effective.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was funded by the French National Institute for Health and Medical Research (INSERM) and the University of Evry Val d'Essonne.

REFERENCES

- Fleg JL, Morrell CH, Bos AG, et al. Accelerated longitudinal decline of aerobic capacity in healthy older adults. *Circulation* 2005;112:674–682.
- Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med* 2002;346:793–801.
- Gospillou G, Bourdel-Marchasson I, Rouland R, et al. Mitochondrial energetics is impaired in vivo in aged skeletal muscle. *Aging Cell* 2014;13:39–48.
- Hepple RT, Hagen JL, Krause DJ, Jackson CC. Aerobic power declines with aging in rat skeletal muscles perfused at matched convective O₂ delivery. *J Appl Physiol* (1985). 2003;94:744–751.
- Nuss JE, Amaning JK, Bailey CE, et al. Oxidative modification and aggregation of creatine kinase from aged mouse skeletal muscle. *Aging* 2009;1:557–572.
- Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:10771–10778.
- Vigelso A, Andersen NB, Dela F. The relationship between skeletal muscle mitochondrial citrate synthase activity and whole body oxygen uptake adaptations in response to exercise training. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2014;6:84–101.
- Figueiredo PA, Powers SK, Ferreira RM, Amado F, Appell HJ, Duarte JA. Impact of lifelong sedentary behavior on mitochondrial function of mice skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009a;64:927–939.
- Figueiredo PA, Powers SK, Ferreira RM, Appell HJ, Duarte JA. Aging impairs skeletal muscle mitochondrial bioenergetic function. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009b;64:21–33.
- Buch A, Carmeli E, Boker LK, et al. Muscle function and fat content in relation to sarcopenia, obesity and frailty of old age - An overview. *Exp Gerontol* 2016;76:25–32.
- Greenlund LJ, Nair KS. Sarcopenia—consequences, mechanisms, and potential therapies. *Mech Ageing Dev* 2003;124:287–299.
- Garcia-Valles R, Gomez-Cabrera MC, Rodriguez-Manas L, et al. Life-long spontaneous exercise does not prolong lifespan but improves health span in mice. *Longev Healthspan*. 2013;2:14.
- Churchward-Venne TA, Tieland M, Verdijk LB, et al. There are no nonresponders to resistance-type exercise training in older men and women. *J Am Med Dir Assoc* 2015;16:400–411.
- Melov S, Tarnopolsky MA, Beckman K, Felkey K, Hubbard A. Resistance exercise reverses aging in human skeletal muscle. *PLoS One* 2007;2:e465.
- Safdar A, Bourgeois JM, Ogborn DI, et al. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:4135–4140.
- Fiatarone MA, Marks EC, Ryan ND, Meredith CN, Lipsitz LA, Evans WJ. High-intensity strength training in nonagenarians. Effects on skeletal muscle. *JAMA* 1990;263:3029–3034.
- Rossiter HB, Howlett RA, Holcombe HH, Entin PL, Wagner HE, Wagner PD. Age is no barrier to muscle structural, biochemical and angiogenic adaptations to training up to 24 months in female rats. *J Physiol* 2005;565:993–1005.
- Lanza IR, Short KR, et al. Endurance exercise as a countermeasure for aging. *Diabetes* 2008;57:2933–2942.
- Betik AC, Baker DJ, Krause DJ, McConkey MJ, Hepple RT. Exercise training in late middle-aged male Fischer 344 x Brown Norway F1-hybrid rats improves skeletal muscle aerobic function. *Exp Physiol* 2008;93:863–871.
- McCarthy JP, Agre JC, Graf BK, Pozniak MA, Vailas AC. Compatibility of adaptive responses with combining strength and endurance training. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27:429–436.
- Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007;14:753–760.
- Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO_2max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:H1301–H1310.
- Betik AC, Thomas MM, Wright KJ, Riel CD, Hepple RT. Exercise training from late middle age until senescence does not attenuate the declines in skeletal muscle aerobic function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;297:R744–R755.
- Kuznetsov AV, Veksler V, Gellerich FN, Saks V, Margreiter R, Kunz WS. Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. *Nat Protoc* 2008;3:965–976.
- Ventura-Clapier R, Kuznetsov AV, d'Albis A, van Deursen J, Wieringa B, Veksler VI. Muscle creatine kinase-deficient mice. I. Alterations in myofibrillar function. *J Biol Chem* 1995;270:19914–19920.
- Delaglio F, Grzesiek S, Vuister GW, Zhu G, Pfeifer J, Bax A. NMRPipe: a multidimensional spectral processing system based on UNIX pipes. *J Biomol NMR* 1995;6:277–293.
- Meyer B, Peters T. NMR spectroscopy techniques for screening and identifying ligand binding to protein receptors. *Angew Chem Int Ed Engl* 2003;42:864–890.
- Savorani F, Tomasi G, Engelsen SB. icoshift: a versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. *J Magn Reson* 2010;202:190–202.
- Amathieu R, Nahon P, Triba M, et al. Metabolomic approach by 1H NMR spectroscopy of serum for the assessment of chronic liver failure in patients with cirrhosis. *J Proteome Res* 2011;10:3239–3245.
- Helgerud J, Hoydal K, Wang E, et al. Aerobic high-intensity intervals improve VO_2max more than moderate training. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:665–671.
- Cartee GD. Aging skeletal muscle: response to exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 1994;22:91–120.
- Messonnier L, Denis C, Prieur F, Lacour JR. Are the effects of training on fat metabolism involved in the improvement of performance during high-intensity exercise? *Eur J Appl Physiol* 2005;94:434–441.
- Tepp K, Timohhina N, Puurand M, et al. Bioenergetics of the aging heart and skeletal muscles: modern concepts and controversies. *Ageing Res Rev* 2016;28:1–14.
- Dzeja PP, Terzic A. Phosphotransfer networks and cellular energetics. *J Exp Biol* 2003;206:2039–2047.
- Zelevnikar RJ, Heyman RA, Graeff RM, et al. Evidence for compartmentalized adenylate kinase catalysis serving a high energy phosphoryl transfer function in rat skeletal muscle. *J Biol Chem* 1990;265:300–311.
- Tabata I, Nishimura K, Kouzaki M, et al. Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and VO_2max . *Med Sci Sports Exerc* 1996;28:1327–1330.
- Rodas G, Ventura JL, Cadefau JA, Cusso R, Parra J. A short training programme for the rapid improvement of both aerobic and anaerobic metabolism. *Eur J Appl Physiol* 2000;82:480–486.
- Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *J Appl Physiol* (1985). 2011;111:1235–1241.

39. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovasc Res* 2005;67:161–172.
40. Russ DW, Lanza IR. The impact of old age on skeletal muscle energetics: supply and demand. *Curr Aging Sci*. 2011;4:234–247.
41. Spina RJ, Chi MM, Hopkins MG, Nemeth PM, Lowry OH, Holloszy JO. Mitochondrial enzymes increase in muscle in response to 7–10 days of cycle exercise. *J Appl Physiol (1985)*. 1996;80:2250–2254.
42. Siu PM, Donley DA, Bryner RW, Alway SE. Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles. *J Appl Physiol (1985)* 2003;94:555–560.
43. Baldwin KM, Cooke DA, Cheadle WG. Time course adaptations in cardiac and skeletal muscle to different running programs. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1977;42:267–272.
44. Picard M, Wright KJ, Ritchie D, Thomas MM, Hepple RT. Mitochondrial function in permeabilized cardiomyocytes is largely preserved in the senescent rat myocardium. *PLoS One* 2012;7:e43003.
45. Kwong LK, Sohal RS. Age-related changes in activities of mitochondrial electron transport complexes in various tissues of the mouse. *Arch Biochem Biophys* 2000;373:16–22.
46. Ito T, Yoshikawa N, Schaffer SW, Azuma J. Tissue taurine depletion alters metabolic response to exercise and reduces running capacity in mice. *J Amino Acids*. 2014;2014:964680.
47. Holloszy JO, Chen M, Cartee GD, Young JC. Skeletal muscle atrophy in old rats: differential changes in the three fiber types. *Mech Ageing Dev* 1991;60:199–213.
48. Le Moyec L, Mille-Hamard L, Triba MN, Breuneval C, Petot H, Billat VL. NMR metabolomics for assessment of exercise effects with mouse biofluids. *Anal Bioanal Chem* 2012;404:593–602.

2. Article 2 : Ayachi M. et al. 2016.

“ Validation of a Ramp Running Protocol for Determination of the True VO₂max in Mice.”



Validation of a Ramp Running Protocol for Determination of the True VO_{2max} in Mice

Mohamed Ayachi, Romain Niel, Iman Momken, Véronique L. Billat and Laurence Mille-Hamard*

Unité de Biologie Intégrative des Adaptations à l'Exercice, Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Gary Iwamoto,
University of Illinois at
Urbana-Champaign, USA

Reviewed by:

Amanda Nelson,
University of Wisconsin-Green Bay,
USA
Thomas Lowder,
University of Central Arkansas, USA

*Correspondence:

Laurence Mille-Hamard
laurence.hamard@univ-evry.fr

Specialty section:

This article was submitted to
Exercise Physiology,
a section of the journal
Frontiers in Physiology

Received: 24 May 2016

Accepted: 12 August 2016

Published: 29 August 2016

Citation:

Ayachi M, Niel R, Momken I, Billat VL and Mille-Hamard L (2016) Validation of a Ramp Running Protocol for Determination of the True VO_{2max} in Mice. *Front. Physiol.* 7:372. doi: 10.3389/fphys.2016.00372

In the field of comparative physiology, it remains to be established whether the concept of VO_{2max} is valid in the mouse and, if so, how this value can be accurately determined. In humans, VO_{2max} is generally considered to correspond to the plateau observed when VO_2 no longer rises with an increase in workload. In contrast, the concept of VO_{2peak} tends to be used in murine studies. The objectives of the present study were to determine whether (i) a continuous ramp protocol yielded a higher VO_{2peak} than a stepwise, incremental protocol, and (ii) the VO_{2peak} measured in the ramp protocol corresponded to VO_{2max} . The three protocols (based on intensity-controlled treadmill running until exhaustion with eight female FVB/N mice) were performed in random order: (a) an incremental protocol that begins at $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ speed and increases by $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ every 3 min. (b) a ramp protocol with slow acceleration ($3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$), and (c) a ramp protocol with fast acceleration ($12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$). Each protocol was performed with two slopes (0 and 25°). Hence, each mouse performed six exercise tests. We found that the value of VO_{2peak} was protocol-dependent ($p < 0.05$) and was highest ($59.0 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) for the $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ 0° ramp protocol. In the latter, the presence of a VO_{2max} plateau was associated with the fulfillment of two secondary criteria (a blood lactate concentration $>8 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ and a respiratory exchange ratio >1). The total duration of the $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ 0° ramp protocol was shorter than that of the incremental protocol. Taken as a whole, our results suggest that VO_{2max} in the mouse is best determined by applying a ramp exercise protocol with slow acceleration and no treadmill slope.

Keywords: VO_{2max} , mice, exercise protocol, comparative physiology, performance

INTRODUCTION

Although rodents are often used as models in exercise physiology, there is no consensus on the use of a standardized exercise protocol for determining the maximum oxygen uptake (VO_{2max}) in these species. In fact, the concept of peak oxygen consumption (VO_{2peak}) is preferred in mice. Given that VO_{2max} is the main determinant of performance in human exercise physiology (i.e., the greatest possible oxygen uptake during physical exercise involving a large proportion of the total muscle mass (Cohn, 1987), it remains to be established whether this concept is valid in the mouse and, if so, how VO_{2max} can be accurately determined.

It is widely acknowledged that VO_{2max} in humans corresponds to both the cardiovascular system's functional limitation and the organism's aerobic capacity. Since the VO_{2max} concept

was introduced by Hill and Lupton (1923), the use of exercise protocols with progressive or stepped increments has been validated in human - although the optimal choice of exercise protocol is still subject to debate. In stepwise protocols, the height of the step (i.e., the magnitude of the increment) and the duration of each workload level are left to the investigator's discretion. Since the 1960s, a number of different incremental protocols (with variations in running speed, treadmill slope or both) have been tested for their reliability in determining $\text{VO}_{2\text{max}}$ (Balke and Ware, 1959; Bruce et al., 1963; Froelicher et al., 1974). In contrast, ramp protocols are characterized by a continuous, gradual increase in the workload (i.e., power, speed or slope) up to maximum values. Many researchers have compared incremental protocols with ramp protocols, in order to establish the most efficient method for determining $\text{VO}_{2\text{max}}$ (Whipp et al., 1981; Astorino et al., 2005; Yoon et al., 2007). These studies have shown that the ramp exercise protocol is well suited to the human's aerobic metabolism and thus enables $\text{VO}_{2\text{max}}$ to be accurately determined. However, ramp protocols take longer to complete, and incremental protocols are preferred for the routine measurement of $\text{VO}_{2\text{max}}$ because they allow other performance indicators (such as the ventilatory threshold and the lactate threshold) to be determined. In humans, $\text{VO}_{2\text{max}}$ is generally considered to correspond to the plateau observed when VO_2 no longer increases with speed. However, about half of tested subjects do not reach a plateau before they abandon the protocol; secondary criteria then have to be used to establish when the last (peak) VO_2 value indeed corresponds to $\text{VO}_{2\text{max}}$. Three secondary criteria have been proposed: (i) the maximum heart rate at the end of the test, which corresponds to an estimate of the theoretical maximum (Åstrand, 1952; Astrand, 1960; Maritz et al., 1961); (ii) an end-of-exercise respiratory exchange ratio (RER) >1.15 (Issekutz et al., 1962); and (iii) an end-of-exercise blood lactate concentration $>8 \text{ mmol.l}^{-1}$.

For the purposes of comparative physiology, $\text{VO}_{2\text{max}}$ has also been determined in rodents. This parameter can be used in studies of exercise training or in descriptive studies of genetically modified animals (Kemi et al., 2002; Hoydal et al., 2007; Mouisel et al., 2014). As in humans, the relationship between running intensity and oxygen uptake is linear in mice (as demonstrated during steady-state, fixed-intensity running (Fernando et al., 1993; Schefer and Talan, 1996; Wisløff et al., 2001); this enables the use of incremental protocols. However, various strains of mouse have been used, and an effect of strain on treadmill performance has been evidenced. FVB mice achieve high maximum and critical speeds during forced treadmill exercise (Lightfoot et al., 2001; Lerman et al., 2002; Billat et al., 2005). Furthermore, age (Schefer and Talan, 1996) gender (Hoydal et al., 2007) may affect $\text{VO}_{2\text{max}}$. $\text{VO}_{2\text{peak}}$ decreases in old age, although female and male mice appear to have similar levels of performance (Kemi et al., 2002; Billat et al., 2005). Consequently, the disparities in the literature data on $\text{VO}_{2\text{peak}}$ can be explained (at least in part) by differences in age and strain.

Although, the mouse has been widely used to study the biochemical and molecular adaptations to exercise, a number of different protocols have been applied; this may explain (at least in part) the broad range of values obtained for $\text{VO}_{2\text{peak}}$.

Furthermore, it has been reported that $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in mice is slope-dependent (Kemi et al., 2002). The incremental protocols described in the literature differ in their duration, increment size and the criteria used to determine exhaustion (usually the animal's behavior or the shape of the VO_2/time curve) (Dohm et al., 1994; Rezende et al., 2005; Hawkins et al., 2007). It is not known whether a ramp protocol is suitable for determining $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in mice or whether this value is protocol-dependent. Kemi et al. (2002) were the first to estimate the animal's level of exhaustion by applying secondary criteria (i.e., the RER and blood lactate levels) (Kemi et al., 2002). However, the presence or absence of a VO_2 plateau, the latter's characteristics and the relationship between $\text{VO}_{2\text{peak}}$ and $\text{VO}_{2\text{max}}$ have not previously been studied in the mouse. We hypothesized that $\text{VO}_{2\text{peak}}$ and $\text{VO}_{2\text{max}}$ in mice are protocol-dependent and that (as in humans) a ramp exercise protocol would be suitable for determining $\text{VO}_{2\text{max}}$. Thus, the objective of the present study in mice was to determine whether (i) a continuous ramp protocol yielded a higher $\text{VO}_{2\text{peak}}$ than a stepwise, incremental protocol, and (ii) the $\text{VO}_{2\text{peak}}$ measured in the ramp protocol corresponded to $\text{VO}_{2\text{max}}$.

METHODS

Animal

One-year-old male FVB mice ($n = 8$) were selected for use in this study by virtue of their high level of performance on a treadmill (Lerman et al., 2002). The mice were kept in a specific and opportunistic pathogen-free animal facility (CERFE, Genopole, Evry, France) at a temperature of 22°C and with light-dark cycles 12/12-h. The animals were fed a standard diet *ad libitum*. Our protocol was approved by our institutions Animal Care and Use Committee on Care and complied with the European Convention of the Council of Europe for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

Familiarization

Mice were familiarized with the single-lane, motorized treadmill (adjustable belt speed: $0\text{--}99.9 \text{ m.min}^{-1}$; Columbus Instruments, Columbus, OH, USA) during four 10-min running sessions (at 0, 3, 6, and 9 m.min^{-1}), with a 48-h interval between each session. All mice subsequently included in the study were able to run for the required time at 9 m.min^{-1} . The running speed was not increased further, in order to avoid a training effect.

The Exercise Protocol

The treadmill was set up in a metabolic chamber. Three different protocols were applied: an incremental protocol (IP) with a starting speed of 10 m.min^{-1} and an increment of 3 m.min^{-1} every 3 min; a ramp protocol with a starting speed of 3 m.min^{-1} and an acceleration of $0.05 \text{ m.min}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (corresponding to 3 m.min^{-2}), hereafter referred to as "Ramp3"; and a ramp protocol with a starting speed of 3 m.min^{-1} and an acceleration of $0.2 \text{ m.min}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (corresponding to 12 m.min^{-2}), hereafter referred to as "Ramp12." Each of the three protocols was performed with two different slopes (0 and 25°); hence,

each mouse performed six sessions. To avoid conditioning bias, the test sequence was randomized and there was 24-h interval between each session. The exercise session lasted until exhaustion, which was defined as the mouse's inability to maintain running speed despite being in contact with the electrical grid for more than 5 consecutive seconds (Mille-Hamard et al., 2012). All mice were compliant in all tests. The resting blood lactate concentration was measured at the start of the test ($[\text{Lac}]_{\text{rest}}$) and 2 min after the end of each run ($[\text{La}]_{\text{max}}$). To this end, a blood drop was collected at the tail vein (using the tail snip method), placed on a test strip and inserted into a lactate analyzer (Lactate Pro, Arkray, Inc., Kyoto, Japan).

Gas Measurements

Ambient air was fed through the metabolic chamber at a rate of $0.66 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$; the flow was chosen such that the incoming vs. outgoing difference in O_2 fraction was within the sensor's range of measurement (-0.3 to -0.8% O_2). A fan was used to mix the incoming air with the air around the treadmill and blow it toward the animal. The air flowed from the front of the treadmill to the rear of the treadmill and then returned toward the front under the belt. This created a rapid, circular "loop" of mixed gases (i.e., incoming "fresh" air mixed with the accumulated, exhaled gases), from which a sample was drawn for analysis every 5 s. Samples were dried prior to measurement of the O_2 and CO_2 fractions. The gas analyzers were calibrated with standardized gas mixtures (Air Liquide Santé, Paris, France) before each test session, as recommended by the manufacturer. To allow rapid comparisons over a wide range of body weights (especially with human data), dimensional analyses and empirical studies have shown that VO_2 should be divided by the body mass raised to the power of 0.75 (Taylor et al., 1981; Hoydal et al., 2007; Mille-Hamard et al., 2012).

Data Analysis

$\text{VO}_{2\text{peak}}$ was defined as the highest observed value of VO_2 when averaged over successive 15 s periods. $\text{VO}_{2\text{max}}$ was defined as in humans (i.e., the highest $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value recorded during a set of different test protocols, and the occurrence of a VO_2 plateau). The VO_2 plateau was determined when the VO_2 did not increase by more than 1% of the difference between the VO_2 at rest and $\text{VO}_{2\text{peak}}$ over a 30 s period, despite an increase in running speed. The mouse's maximum speed (V_{max}) was defined as the running speed at the end of the protocol. The RER was defined as the ratio between the amount of oxygen (O_2) consumed and the amount of carbon dioxide (CO_2) produced in the metabolic chamber. The maximum respiratory exchange ratio (RER_{max}) was defined as the highest observed value of the RER when averaged over successive 15 s periods.

Statistics

Data are expressed as the mean \pm standard deviation (SD). Statistical analysis was carried out with a two-way repeated measures ANOVA, followed by a Holm-Sidak *post-hoc* test. The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$. All statistical analyses were performed using STATISTICA software (version 9.0, Statsoft, Berkeley, CA, USA).

RESULTS

$\text{VO}_{2\text{peak}}$ in Each Exercise Protocol

The highest observed $\text{VO}_{2\text{peak}}$ ($59.0 \pm 0.61 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$, **Figure 1**) was obtained during the Ramp3 0° protocol. This value was significantly greater than those obtained in the other protocols. The presence of a slope influenced the value of $\text{VO}_{2\text{peak}}$, which was higher in IP 25° than in IP 0° but lower in Ramp3 25° and Ramp12 25° than in Ramp3 0° and Ramp12 0° . The minimum VO_2 determined at the beginning of the protocol (referred to as the VO_2 at rest) was essentially the same in all protocols (mean: $43.6 \pm 3.9 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$).

Observation of a $\text{VO}_{2\text{peak}}$ Plateau as a Function of the Exercise Protocol

As shown in **Table 1**, all mice displayed a VO_2 plateau for at least 30 s during the Ramp3 0° and IP 25° protocols (mean plateau duration: $57.5 \text{ s} \pm 11.3$ and $75 \pm 11.24 \text{ s}$, respectively). During other protocols, some (but not all) mice reached a VO_2 plateau for at least 30 s (**Table 1**)

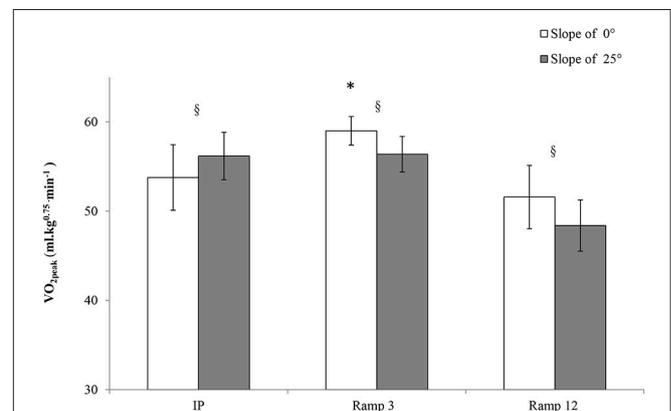


FIGURE 1 | $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in each exercise protocol: one-year-old sedentary FVB/N mice ($n = 8$) performed six exhaustive exercise protocols with a treadmill slope of 25 or 0° . IP, an incremental protocol with a starting speed of $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ and an increment of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ every 3 min; Ramp3, a ramp protocol with a starting speed of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ and an acceleration of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ ($0.05 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$); Ramp12, a ramp protocol with a starting speed of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ and an acceleration of $12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ ($0.2 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$); §, a significant difference between 25 and 0° for the same protocol ($p < 0.05$); *, differs significantly from all other protocols ($p < 0.05$).

TABLE 1 | Percentages of mice reaching a VO_2 plateau for least 30 s, as defined in the Methods section.

	IP (%)	Ramp3 (%)	Ramp12 (%)
Slope of 0°	87.5	100	87.5
Slope of 25°	100	75	87.5

IP, an incremental protocol with a starting speed of $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ and an increment of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ every 3 min; Ramp3, a ramp protocol with a starting speed of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ and an acceleration of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ ($0.05 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$); Ramp12, a ramp protocol with a starting speed of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ and an acceleration of $12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ ($0.2 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$).

Maximal Respiratory Exchange Ratio: RER_{max}

There were no inter-test differences in RER_{max} (Figure 2). For Ramp3 0° , the mean RER_{max} value was 1.06 ± 0.01 , and RER_{max} was greater than 1.05 for seven of the eight mice.

Maximum Blood Lactate Concentration

$[La]_{max}$ was above 6 mmol.l^{-1} for all mice and all protocols (Figure 3). In the Ramp3 0° protocol, the mean $[La]_{max}$ was 13.80 ± 0.34 and $[La]_{max}$ was greater than 12 mol.l^{-1} for all mice.

Maximal Speed: V_{max}

The V_{max} of the mice was higher in the ramp protocols ($54.88 \pm 4.57 \text{ m.min}^{-1}$ for Ramp12 0° ; $46.34 \pm 2.45 \text{ m.min}^{-1}$ for Ramp3 0°) than in the step protocol (IP 0° : $38.13 \pm 1.79 \text{ m.min}^{-1}$) (Figure 4). For all three protocols, V_{max} was higher with 0° than with 25° .

Time to Exhaustion

As shown in Figure 5, the time to exhaustion was significantly longer in IP 0° ($29.33 \pm 1.58 \text{ min}$) than in the two ramp protocols. For example, the time to exhaustion in Ramp3 0° ($15.43 \pm 0.8 \text{ min}$) was almost half that observed in IP 0° .

DISCUSSION

The present study in mice was designed to determine whether (i) a continuous ramp protocol yielded a higher VO_{2peak} than a stepwise, incremental protocol, and (ii) the VO_{2peak} measured in the ramp protocol corresponded to VO_{2max} .

This is an important issue, given that mice are frequently studied models in exercise physiology and that a variety of exercise protocols have been applied in this context. Our main findings were that a ramp protocol (with an acceleration of

3 m.min^{-2} and no treadmill slope) elicited a higher VO_{2peak} than an incremental protocol (regardless of slope), and that the VO_{2peak} does appear to correspond to the VO_{2max} (given that a VO_2 plateau was observed and the secondary criteria were met). The Ramp3 0° protocol is therefore relevant for the determination of VO_{2max} in mice.

According to the literature data, VO_{2peak} in sedentary male mice ranges from 47 to $94 \text{ ml.kg}^{-0.75}.\text{min}^{-1}$ (Dohm et al., 1994; Schefer and Talan, 1996; Desai et al., 1999; Niebauer et al., 1999; Kemi et al., 2002). Furthermore, no major gender differences have been reported. Although gender differences have been observed

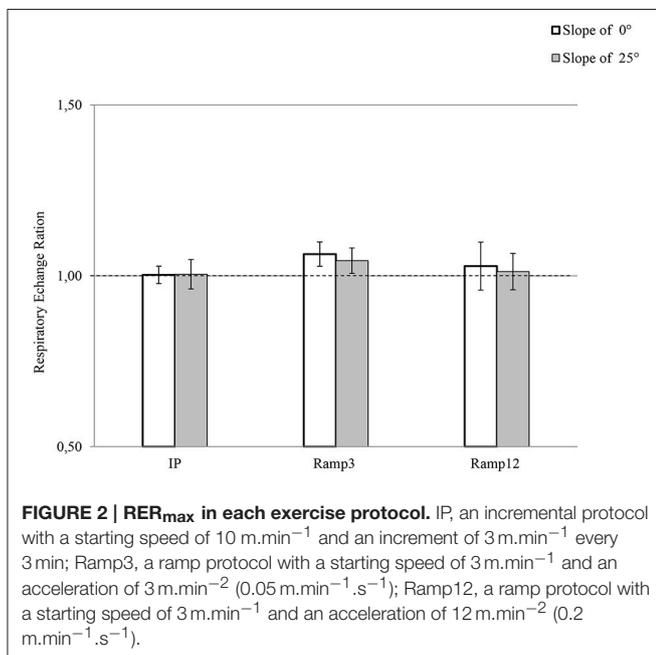
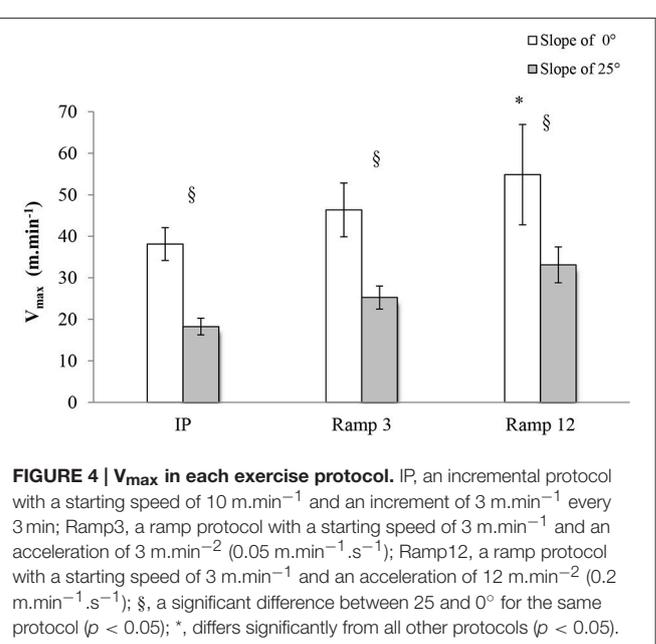
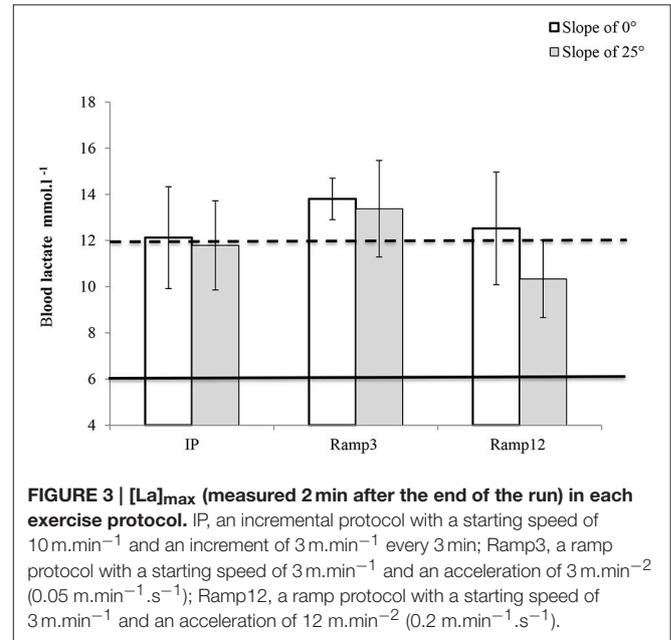
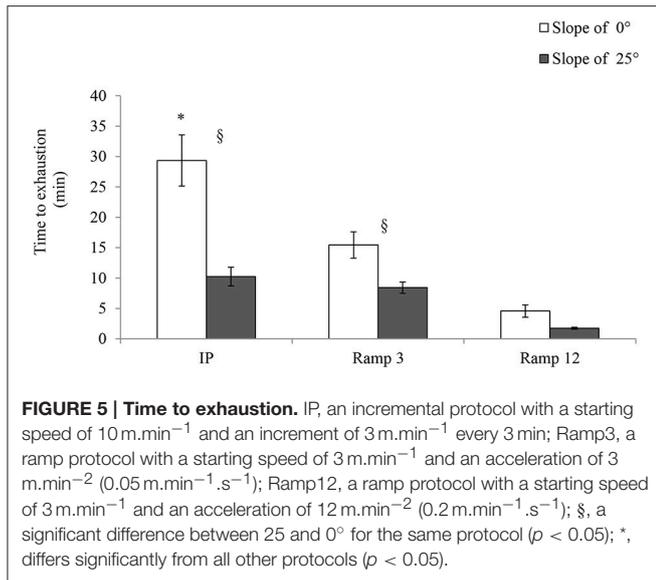


FIGURE 4 | V_{max} in each exercise protocol. IP, an incremental protocol with a starting speed of 10 m.min^{-1} and an increment of 3 m.min^{-1} every 3 min; Ramp3, a ramp protocol with a starting speed of 3 m.min^{-1} and an acceleration of 3 m.min^{-2} ($0.05 \text{ m.min}^{-1}.\text{s}^{-1}$); Ramp12, a ramp protocol with a starting speed of 3 m.min^{-1} and an acceleration of 12 m.min^{-2} ($0.2 \text{ m.min}^{-1}.\text{s}^{-1}$); §, a significant difference between 25 and 0° for the same protocol ($p < 0.05$); *, differs significantly from all other protocols ($p < 0.05$).



for voluntary exercise (with young female mice running farther and faster than young males Lightfoot et al., 2004; Bartling et al., 2016), studies of forced exercise on a treadmill have not evidenced gender differences for critical speed, maximum distance (Billat et al., 2005; Lightfoot et al., 2007), or $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in untrained mice (Kemi et al., 2002). Hence, we conclude that aerobic capacity does not depend on gender in untrained mice. Along with heterogeneity in the test protocols, several other factors may influence the observed $\text{VO}_{2\text{peak}}$. It has been reported that $\text{VO}_{2\text{peak}}$ falls from $79 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$ in young adult (12-month-old) mice to $56 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$ in elderly (24-month-old) mice (Schefer and Talan, 1996). Thus, age differences in various studies may account for some of the discrepancies between reported $\text{VO}_{2\text{peak}}$ values. Moreover, the mouse's level of performance is known to depend on the strain (Lightfoot et al., 2001; Billat et al., 2005). Given that $\text{VO}_{2\text{peak}}$ is considered to be an indicator of performance, one can legitimately hypothesize that this variable is also influenced by the strain of mouse studied. The only study to date of $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in FVB mice reported a value corresponding to $60 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$ (Chow et al., 2007) which falls within the range of values observed in the present study. Hence, the choice of different strains may also account for some of the discrepancies in $\text{VO}_{2\text{peak}}$ values.

Furthermore, the impact of the exercise protocol used to determine $\text{VO}_{2\text{peak}}$ values in mice has not previously been assessed. To the best of our knowledge, the only previous study in this field focused on the effect of treadmill slope on $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in an incremental protocol (Wisløff et al., 2001). We hypothesized that the choice of exercise protocol would have a critical impact on the measured $\text{VO}_{2\text{peak}}$. For example, Kemi et al.'s (2002) study used an incremental protocol with an increment of $1.8 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ every 2 min. They reported a mean $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value of $47 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$ and a mean time to exhaustion of 30 min. In contrast, Dohm et al. (1994) study used an incremental protocol with an increment of $8.4 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ every 2 min to obtain a mean $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value of $94 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-0.75}\cdot\text{min}^{-1}$ and a time to exhaustion of

16 min. The results of the present study showed that the $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value is protocol-dependent ($p < 0.05$). The highest value was obtained in the Ramp3 0° protocol; hence, ramp protocols are suitable for determining $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in mice. Indeed, the ramp protocol was associated with a shorter time to exhaustion ($15 \pm 0.82 \text{ min}$ in Ramp3 0° and $30 \pm 1.51 \text{ min}$ in IP 0°). This may explain why $\text{VO}_{2\text{peak}}$ was higher in the Ramp3 0° protocol than in the IP 0° protocol. In humans, a shorter time to exhaustion is associated with a higher $\text{VO}_{2\text{max}}$ (Froelicher et al., 1974); this also appears to be true in the mouse.

It has been demonstrated that $\text{VO}_{2\text{peak}}$ is highest when the treadmill slope is between 15 and 35° (Kemi et al., 2002). Accordingly, we chose a value of 25° . This slope was associated with significant differences in the measured $\text{VO}_{2\text{peak}}$ (relative to the 0° condition, and for both the incremental protocol and the ramp protocols). Interestingly, the IP 25° protocol yielded a higher $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value than the IP 0° protocol. This confirmed the results of Kemi et al.'s study of an incremental protocol (2002). In contrast, $\text{VO}_{2\text{peak}}$ was lower for Ramp3 25° than for Ramp3 0° . In exercising human (in whom energy expenditure is mainly related to muscle work), concentric work requires 3- to 5-fold more energy than the same amount of eccentric work. The energy cost of running therefore depends on the relative proportions of these two types of work, which in turn depends on the slope; the steeper the slope at a given speed, the greater the proportion of concentric work and thus the greater the energy expenditure. (Minetti et al., 1993, 1994; Pringle et al., 2002). This phenomenon seems to have occurred in the ramp protocols because the mice attained a lower V_{max} when the treadmill was inclined. Furthermore, running on a sloping treadmill may recruit a greater muscle mass (Kemi et al., 2002). Consequently, involvement of a greater muscle mass and a greater proportion of concentric work in ramp protocols with slope might be responsible for fatigue and thus a lower $\text{VO}_{2\text{peak}}$. However, the data collected in the present study did not enable us to confirm this hypothesis. Furthermore, it is possible that use of a shallower slope would have increased the concentric work without leading to too much fatigue and thus would have yielded a higher $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value.

As well as being associated with the highest $\text{VO}_{2\text{peak}}$ value, the Ramp3 0° protocol produced a $\text{VO}_{2\text{max}}$ plateau for which two secondary criteria (the blood lactate concentration and the RER) were fulfilled. Thus, a ramp protocol with an acceleration of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ and no slope enables the determination of the $\text{VO}_{2\text{max}}$ in mice, according to the definition usually applied in humans. Over the last 15 years, a number of researchers have evaluated the influence of data sampling on changes over time in VO_2 and the determination of $\text{VO}_{2\text{max}}$ in human (Astorino et al., 2005; Midgley et al., 2006, 2007; Astorino, 2009). These studies showed that averaging VO_2 over successive 15 s periods provided a more accurate measurement of $\text{VO}_{2\text{max}}$ and increased the likelihood of observing a VO_2 plateau. As breath-by-breath sampling is not possible for mice in a metabolic chamber, we used the device's shortest sampling time (5 s, i.e., below the maximum recommended value of 15 s). Furthermore, very few studies have focused on whether a VO_2 plateau (which defines $\text{VO}_{2\text{max}}$) can be observed in mice. Many researchers have not

distinguished between $\text{VO}_{2\text{peak}}$ and $\text{VO}_{2\text{max}}$, and have defined $\text{VO}_{2\text{max}}$ in different ways. For example, Gebczynski defined $\text{VO}_{2\text{max}}$ as the highest mean VO_2 value over 1 min (Gebczynski and Konarzewski, 2009), and Ferreira et al. (2007) considered that $\text{VO}_{2\text{max}}$ was equivalent to $\text{VO}_{2\text{peak}}$ (Ferreira et al., 2007). In contrast, some researchers have stated that $\text{VO}_{2\text{max}}$ corresponds to the VO_2 plateau; unfortunately, the researchers evaluated the VO_2 curve visually and did not define criteria for detecting a plateau (Niebauer et al., 1999; Kemi et al., 2002). In 1955, Taylor et al. stated that the change in VO_2 (ΔVO_2) should be below $2.1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ or $150 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ for more than 30 s if it is to be considered as a $\text{VO}_{2\text{max}}$ plateau: (Billat et al., 2013). For a sedentary subject, this ΔVO_2 represents around 5% of the difference between the VO_2 measured at rest and $\text{VO}_{2\text{max}}$. In view of our previous data in mice, (Mille-Hamard et al., 2012; Mouisel et al., 2014) and studies indicating that there is not much difference between VO_2 at rest and $\text{VO}_{2\text{peak}}$ in mice (Ferreira et al., 2007; Mazzucatto et al., 2014), we decided to reduce the value of ΔVO_2 . Hence, in the present study, the VO_2 plateau was determined when the VO_2 did not increase by more than 1% of the difference between the VO_2 at rest and $\text{VO}_{2\text{peak}}$ over a 30 s period, despite an increase in running speed.

Furthermore, Kemi et al. considered two of the secondary criteria applied in human exercise tests. Given that non-invasive measurement of the heart rate is not practical in mice, Kemi et al. suggested that an $\text{RER} > 1$ and an $[\text{La}]_{\text{max}} > 6 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ can be used to confirm the value of $\text{VO}_{2\text{max}}$ when a VO_2 plateau is not observed (Kemi et al., 2002). Our present data on RER_{max} and $[\text{La}]_{\text{max}}$ suggest that the $\text{VO}_{2\text{max}}$ was attained by all the mice during the Ramp3 0° protocol. The recorded values of RER_{max} (mean: 1.06 ± 0.01) and $[\text{La}]_{\text{max}}$ ($> 12 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) indicated that exercise was strenuous. (Astorino, 2009).

REFERENCES

- Astorino, T. A. (2009). Alterations in $\text{VO}_{2\text{max}}$ and the VO_2 plateau with manipulation of sampling interval. *Clin. Physiol. Funct. Imaging* 29, 60–67. doi: 10.1111/j.1475-097X.2008.00835.x
- Astorino, T. A., Willey, J., Kinnahan, J., Larsson, S. M., Welch, H., and Dalleck, L. C. (2005). Elucidating determinants of the plateau in oxygen consumption at $\text{VO}_{2\text{max}}$. *Br. J. Sports Med.* 39, 655–660. discussion: 660. doi: 10.1136/bjism.2004.016550
- Astrand, I. (1960). Aerobic work capacity in men and women with special reference to age. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 49, 1–92.
- Åstrand, P. O. (1952). *Experimental Studies of Physical Working Capacity in Relation to Sex and Age*. Copenhagen: E. Munksgaard.
- Balke, B., and Ware, R. W. (1959). An experimental study of physical fitness of Air Force personnel. *U. S. Armed Forces Med. J.* 10, 675–688.
- Bartling, B., Al-Robaiy, S., Lehnich, H., Binder, L., Hiebl, B., and Simm, A. (2016). Sex-related differences in the wheel-running activity of mice decline with increasing age. *Exp. Gerontol.* doi: 10.1016/j.exger.2016.04.011. [Epub ahead of print].
- Billat, V. L., Mouisel, E., Roblot, N., and Melki, J. (2005). Inter- and intraintrain variation in mouse critical running speed. *J. Appl. Physiol.* (1985) 98, 1258–1263. doi: 10.1152/jappphysiol.00991.2004
- Billat, V., Petot, H., Karp, J. R., Sarre, G., Morton, R. H., and Mille-Hamard, L. (2013). The sustainability of $\text{VO}_{2\text{max}}$: effect of decreasing the workload. *Eur. J. Appl. Physiol.* 113, 385–394. doi: 10.1007/s00421-012-424-7
- Bruce, R. A., Blackmon, J. R., Jones, J. W., and Strait, G. (1963). Exercising testing in adult normal subjects and cardiac patients. *Pediatrics* 32(Suppl), 742–756.
- Chow, L. S., Greenlund, L. J., Asmann, Y. W., Short, K. R., McCrady, S. K., Levine, J. A., et al. (2007). Impact of endurance training on murine spontaneous activity, muscle mitochondrial DNA abundance, gene transcripts, and function. *J. Appl. Physiol.* (1985) 102, 1078–1089. doi: 10.1152/jappphysiol.00791.2006
- Cohn, J. N., 1987 (1987). Quantitative exercise testing for the cardiac patient: the value of monitoring gas exchange. Atlanta, Georgia, March 7–8, 1986. Proceedings. *Circulation* 76, VII-58.
- Desai, K. H., Schauble, E., Luo, W., Kranias, E., and Bernstein, D. (1999). Phospholamban deficiency does not compromise exercise capacity. *Am. J. Physiol.* 276, H1172–H1177.
- Dohm, M. R., Richardson, C. S., and Garland, T. Jr. (1994). Exercise physiology of wild and random-bred laboratory house mice and their reciprocal hybrids. *Am. J. Physiol.* 267, R1098–R1108.
- Fernando, P., Bonen, A., and Hoffman-Goetz, L. (1993). Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 71, 854–857. doi: 10.1139/y93-128
- Ferreira, J. C., Rolim, N. P., Bartholomeu, J. B., Gobatto, C. A., Kokubun, E., and Brum, P. C. (2007). Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 34, 760–765. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x
- Froelicher, V. F. Jr., Brammell, H., Davis, G., Noguera, I., Stewart, A., and Lancaster, M. C. (1974). A comparison of the reproducibility and physiologic response to three maximal treadmill exercise protocols. *Chest* 65, 512–517. doi: 10.1378/chest.65.5.512

In humans, a standardized stepwise protocol is usually preferred because it enables the determination of other performance indices (blood lactate, ventilatory thresholds, heart rate, etc.) as well as $\text{VO}_{2\text{max}}$. In mice, these indices cannot be calculated without using non-routine equipment (an implanted heart rate sensor and a mouthpiece, for example), and so the ramp protocol suggested here (which enables the true $\text{VO}_{2\text{max}}$ to be determined rapidly) should be preferred. However, it remains to be seen whether the ramp protocol is suitable for all strains and age groups and for both sexes.

CONCLUSION

The principal findings of this study in the mouse were that (i) the $\text{VO}_{2\text{peak}}$ observed at the end of exhaustive exercise is protocol-dependent, and (ii) a ramp exercise protocol with an acceleration of $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-2}$ (i.e., $0.05 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) and no treadmill slope is suitable for determining $\text{VO}_{2\text{max}}$ as defined in humans.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MA, RN contributed to the design of the work, the acquisition, analysis, and interpretation of data, drafted the work; LM, IM contributed to the design of the work, the acquisition, analysis, and interpretation of data, drafted the work and revisited it critically for important intellectual content; VB contributed to the design of the work, the interpretation of data, revisited the work critically for important intellectual content. All authors approved the version to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

- Gebczynski, A. K., and Konarzewski, M. (2009). Metabolic correlates of selection on aerobic capacity in laboratory mice: a test of the model for the evolution of endothermy. *J. Exp. Biol.* 212, 2872–2878. doi: 10.1242/jeb.030874
- Hawkins, M. N., Raven, P. B., Snell, P. G., Stray-Gundersen, J., and Levine, B. D. (2007). Maximal oxygen uptake as a parametric measure of cardiorespiratory capacity. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39, 103–107. doi: 10.1249/01.mss.0000241641.75101.64
- Hill, A. V., and Lupton, H. (1923). Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. *QJM* 16, 135–171. doi: 10.1093/qjmed/os-16.62.135
- Høydal, M. A., Wisloff, U., Kemi, O. J., and Ellingsen, O. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 14, 753–760. doi: 10.1097/HJR.0b013e3281eacef1
- Issekutz, B., Birkhead, N. C., and Rodahl, K. (1962). Use of respiratory quotients in assessment of aerobic work capacity. *J. Appl. Physiol.* 17, 47–50.
- Kemi, O. J., Loennechen, J. P., Wisloff, U., and Ellingsen, Ø. (2002). Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *J. Appl. Physiol.* (1985) 93, 1301–1309. doi: 10.1152/jappphysiol.00231.2002
- Lerman, I., Harrison, B. C., Freeman, K., Hewett, T. E., Allen, D. L., Robbins, J., et al. (2002). Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. *J. Appl. Physiol.* (1985) 92, 2245–2255. doi: 10.1152/jappphysiol.01045.2001
- Lightfoot, J. T., Turner, M. J., Daves, M., Vordermark, A., and Kleeberger, S. R. (2004). Genetic influence on daily wheel running activity level. *Physiol. Genomics* 19, 270–276. doi: 10.1152/physiolgenomics.00125.2004
- Lightfoot, J. T., Turner, M. J., Debate, K. A., and Kleeberger, S. R. (2001). Interstrain variation in murine aerobic capacity. *Med. Sci. Sports Exerc.* 33, 2053–2057. doi: 10.1097/00005768-200112000-00012
- Lightfoot, J. T., Turner, M. J., Knab, A. K., Jedlicka, A. E., Oshimura, T., Marzec, J., et al. (2007). Quantitative trait loci associated with maximal exercise endurance in mice. *J. Appl. Physiol.* (1985) 103, 105–110. doi: 10.1152/jappphysiol.01328.2006
- Maritz, J. S., Morrison, J. F., Peter, J., Strydom, N. B., and Wyndham, C. H. (1961). A practical method of estimating an individual's maximal oxygen intake. *Ergonomics* 4, 97–122. doi: 10.1080/00140136108930512
- Mazzucatto, F., Higa, T. S., Fonseca-Alaniz, M. H., and Evangelista, F. S. (2014). Reversal of metabolic adaptations induced by physical training after two weeks of physical detraining. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 7, 2000–2008.
- Midgley, A. W., McNaughton, L. R., and Carroll, S. (2006). Verification phase as a useful tool in the determination of the maximal oxygen uptake of distance runners. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 31, 541–548. doi: 10.1139/h06-023
- Midgley, A. W., McNaughton, L. R., and Carroll, S. (2007). Physiological determinants of time to exhaustion during intermittent treadmill running at $\dot{V}(\cdot)\text{O}_{2\text{max}}$. *Int. J. Sports Med.* 28, 273–280. doi: 10.1055/s-2006-924336
- Mille-Hamard, L., Billat, V. L., Henry, E., Bonnamy, B., Joly, F., Benech, P., et al. (2012). Skeletal muscle alterations and exercise performance decrease in erythropoietin-deficient mice: a comparative study. *BMC Med. Genomics* 5:29. doi: 10.1186/1755-8794-5-29
- Minetti, A. E., Ardigò, L. P., and Saibene, F. (1993). Mechanical determinants of gradient walking energetics in man. *J. Physiol.* 472, 725–735. doi: 10.1113/jphysiol.1993.sp019969
- Minetti, A. E., Ardigò, L. P., and Saibene, F. (1994). Mechanical determinants of the minimum energy cost of gradient running in humans. *J. Exp. Biol.* 195, 211–225.
- Moussel, E., Relizani, K., Mille-Hamard, L., Denis, R., Hourdé, C., Agbulut, O., et al. (2014). Myostatin is a key mediator between energy metabolism and endurance capacity of skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 307, R444–R454. doi: 10.1152/ajpregu.00377.2013
- Niebauer, J., Maxwell, A. J., Lin, P. S., Tsao, P. S., Kosek, J., Bernstein, D., et al. (1999). Impaired aerobic capacity in hypercholesterolemic mice: partial reversal by exercise training. *Am. J. Physiol.* 276, H1346–H1354.
- Pringle, J. S., Carter, H., Doust, J. H., and Jones, A. M. (2002). Oxygen uptake kinetics during horizontal and uphill treadmill running in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 88, 163–169. doi: 10.1007/s00421-002-0687-0
- Rezende, E. L., Chappell, M. A., Gomes, F. R., Malisch, J. L., and Garland, T. Jr. (2005). Maximal metabolic rates during voluntary exercise, forced exercise, and cold exposure in house mice selectively bred for high wheel-running. *J. Exp. Biol.* 208, 2447–2458. doi: 10.1242/jeb.01631
- Schefer, V., and Talan, M. I. (1996). Oxygen consumption in adult and AGED C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity. *Exp. Gerontol.* 31, 387–392. doi: 10.1016/0531-5565(95)02032-2
- Taylor, C. R., Maloiy, G. M., Weibel, E. R., Langman, V. A., Kamau, J. M., Seeherman, H. J., et al. (1981). Design of the mammalian respiratory system. III Scaling maximum aerobic capacity to body mass: wild and domestic mammals. *Respir Physiol.* 44, 25–37. doi: 10.1016/0034-5687(81)90075-X
- Whipp, B. J., Davis, J. A., Torres, F., and Wasserman, K. (1981). A test to determine parameters of aerobic function during exercise. *J. Appl. Physiol.* 50, 217–221.
- Wisloff, U., Helgerud, J., Kemi, O. J., and Ellingsen, O. (2001). Intensity-controlled treadmill running in rats: $\text{VO}_{2\text{max}}$ and cardiac hypertrophy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 280, H1301–H1310. Available online at: <http://ajpheart.physiology.org/content/280/3/H1301.full.pdf+html>
- Yoon, B. K., Kravitz, L., and Robergs, R. (2007). $\text{VO}_{2\text{max}}$, protocol duration, and the $\text{VO}_{2\text{max}}$ plateau. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39, 1186–1192. doi: 10.1249/mss.0b13e318054e304

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

Copyright © 2016 Ayachi, Niel, Momken, Billat and Mille-Hamard. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

3. Article 3 : Launay T. et al. 2017.

“ Acceleration-based training : A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions.”



Short report

Acceleration-based training: A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions[☆]



Thierry Launay^{a,b}, Iman Momken^a, Serge Carreira^c, Nathalie Mougenot^d, Xian-Long Zhou^{c,e}, Leanne De Koning^f, Romain Niel^a, Bruno Riou^{c,g}, Véronique Billat^{a,1}, Sophie Besse^{a,b,*,1}

^a Unit of Integrative Biology of Adaptations to Exercise, EA 7362, Université d'Evry-Val d'Essonne, Genopole, Evry, France

^b Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

^c Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMR INSERM-UPMC 1166, IHU ICAN, Paris, France

^d Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, PECMV platform, UMS28 INSERM-UPMC, Paris, France

^e Emergency Center of Wuhan University, Wuhan, People's Republic of China

^f RPPA Platform, Department of Translational Research, Institut Curie, PSL Research University, Paris, France

^g AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière Charles-Foix, Department of Emergency Medicine and Surgery, 75013 Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 January 2017

Received in revised form 26 April 2017

Accepted 1 May 2017

Available online 04 May 2017

Keywords:

Aging

Exercise

Cardiac hypertrophy

Muscle

Strength

Maximal oxygen uptake

ABSTRACT

High intensity training (HIT) has been shown to improve maximal aerobic capacity and muscle protein synthesis but has not yet been investigated in senescent rats. We hypothesized that the change of speed (acceleration) during each bout of HIT acts as a stimulus responsible for the adaptations of the organism to exercise. Twenty two month-old (mo) rats ($n = 13$) were subjected to a short acceleration protocol (20–30 min) of exercise, comprising 3 independent bouts of acceleration and compared to an age-matched sedentary group ($n = 14$). The protocol was repeated twice a week for two months. Following the protocol, performance, cardiac function, muscle mechanics, and the cellular and molecular pathways that are implicated in exercise adaptations were investigated. This new training, comprising only 16 sessions, improved maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2peak}$; +6.6%, $p < 0.05$), running distance (+95.2%; $p < 0.001$), speed (+29.7%; $p < 0.01$) and muscle function of 24 mo rats in only 8 weeks. This new training protocol induced cardiac hypertrophy and improved fractional shortening (47.3% vs. 41.1% in the control group, $p < 0.01$) and ejection fraction. Moreover, it also improved the mechanics of skeletal muscle by increasing developed force (+31% vs. the control group, $p < 0.05$) and maximal mechanical efficiency, activated the IGF1/mTOR/Akt pathway, and reduced the Smad2/3 pathway. Our results clearly show that the change in speed is a stimulus to control cardiac and skeletal muscle mass. This acceleration-based training is not time-consuming and may be adaptable for athletes, the elderly or chronic disease patients in order to improve strength, oxidative capacity, and quality of life.

© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Because population longevity in developed countries has considerably increased in recent decades, the concept of “aging well and remaining healthy” has become a societal challenge. Age-related decreases in maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2max}$) and sarcopenia, characterized by muscle mass loss and a decrease in strength and performance are two predictors of mortality in elderly people (Filippin et al., 2015; Laukkanen et al., 2001). Physical exercise is the most accessible,

efficacious and multifactorial intervention to improve health during aging. Although endurance training improved peak oxygen uptake ($\dot{V}O_{2peak}$) and oxidative metabolism, it does not seem to be effective against sarcopenia and is very time consuming (1 h/day for at least 7 w (Witard et al., 2016). High intensity training (HIT) and resistance training increased $\dot{V}O_{2peak}$, maximized skeletal muscle size by increasing protein synthesis, and improved muscle strength (Betik et al., 2009; Hwang et al., 2016; Witard et al., 2016). However, the required time and frequency of training sessions remains high (>40 min/day, >3 days/week) and may demotivate the people from performing regular, structured weekly exercise.

We then hypothesized that the change of speed during training, rather than the duration or the intensity of training itself, could be the main stimulus of exercise-induced physiological and molecular adaptations during aging. In order to test this hypothesis, senescent rats were submitted to a new training program composed of short bouts of

[☆] Dr. Zhou was the recipient of a doctoral grant from the People's Republic of China (the State Scholarship Fund by China Scholarship Council file N° 201406270102).

* Corresponding author at: Unité de Biologie Intégrative des Adaptations à l'exercice, EA 7362, Université d'Evry-Val d'Essonne, 2 rue du Père Jarlan, 91025 Evry cedex, France.

E-mail address: sophie.besse@parisdescartes.fr (S. Besse).

¹ These authors contributed equally to this work.

acceleration, repeated twice a week for two months. Following this, we examined $\dot{V}O_{2\text{peak}}$, maximal running speed and distance, cardiac function, and both muscle mechanics and cellular and molecular pathways reported to be implicated in exercise adaptations in skeletal muscle.

2. Materials and methods

2.1. Animals, training in acceleration, and evaluation of maximal oxygen uptake

Twenty one month old (mo) male Wistar rats from Janvier Labs (Le Genest Saint-Isle, France) were acclimatized for 2 w under constant conditions of temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), with free access to a standard diet and water, and a 12:12 light-dark cycle. The rats were then familiarized with walking (5 min at 7 m min^{-1} , 2 times/week for 2 w) on a motor-driven treadmill (1050-G3-Exer 3/6 Treadmill, Columbus Instruments, OH) for 2 w. All experimental procedures were conducted in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, and approved by our institution's regional Ethics Committee for animal studies.

At 22 months of age, rats were randomly assigned to either a sedentary control (control group; $n = 14$) or acceleration trained (trained group; $n = 13$) group. An incremental exercise test to measure $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ as well as maximal running speed and distance was performed at week 0 using a one-lane treadmill allowing gas exchange measurements (Rat Modular Treadmill, Columbus Instruments, OH). After 8 min recording at rest, the treadmill velocity increased by 4 m min^{-1} every 3 min until the rat ran to exhaustion. Gas samples were taken every 5 s to measure oxygen fraction using a gas analyzer (Columbus Instruments, OH) and oxygen uptake was calculated, as previously reported (Betik et al., 2009). Then, for a period of 8 weeks, the sedentary group walked on the treadmill for 10 min at 7 m min^{-1} one time a week, while the trained group was subjected to acceleration training until exhaustion (3 increasing accelerations: 1.5 m min^{-2} , 3 m min^{-2} and 6 m min^{-2} with 2 sessions/week), automatically controlled by treadmill control software (Exer 3/6 Treadmill software, Columbus Instruments, OH), with an interval of 30 min of rest between each acceleration (Niel et al., 2016). Three rats from the control group with low $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ died during the first 2 weeks of the protocol. Both the sedentary and the trained groups were subjected again to an incremental exercise test to measure $\dot{V}O_{2\text{peak}}$, maximal speed, and maximal distance at weeks 2, 4, 6 and 8 to evaluate the efficiency of our new method of training.

2.2. Echocardiography and tissue collection

At 24 mo, transthoracic echocardiography was performed in sedentary ($n = 11$) and trained ($n = 13$) rats, slightly anesthetized with 2% sevoflurane (SevoFlo®, Abbott, Rungis, France) in oxygen, as previously reported (Carillon et al., 2015). The left ventricular (LV) ejection fraction, LV fractional shortening and LV wall thicknesses were measured using M-mode recordings in a modified short axis view and modified parasternal long-axis electrocardiogram kilohertz-based visualization loops via Simpson's method. The LV wall thickness to radius ratio (h/r ratio) was calculated.

Rats were euthanized with sodium pentobarbital (70 mg/kg intraperitoneally) and muscle strips from the median *gastrocnemius* and *soleus* muscles were carefully dissected *in situ* to study muscle mechanics. A part of the remaining skeletal muscles were frozen in liquid nitrogen for quantification of proteins by Reverse Phase Protein Array (RPPA).

2.3. Muscle mechanics and energetics

Gastrocnemius and *soleus* muscle strips were rapidly mounted in a tissue chamber containing a Krebs-Henseleit solution (2.5 mM CaCl_2 , 4.5 mM glucose, 27°C , pH = 7.4) and then attached to an

electromagnetic force transducer and field-stimulated, as previously described (Carreira et al., 2014). Maximum tetanic isometric tension was achieved at a stimulation frequency of 100 Hz with a train duration of 250 ms for *gastrocnemius* and of 500 ms for *soleus*. After a 30 min stabilization period, peak shortening velocity (V_{max}), the extent of shortening (ΔL), and the active force (AF) normalized to cross-sectional area (S) were measured, as previously reported (Carreira et al., 2014).

Huxley's equations were used to determine the rate of mechanical work (W_M) and the total rate of energy released (E), as previously reported (Lecarpentier et al., 1998). At any given load level, the mechanical efficiency (Eff) of the muscle was calculated as the ratio of the rate of mechanical work (W_M) to the total rate of energy released (E): $\text{Eff} = W_M/E$. The peak maximal efficiency (Eff_{max}) is defined as the maximal value of Eff.

2.4. Reverse phase protein array (RPPA)

RPPA (Akbari et al., 2014) was used to quantify different protein markers of cellular pathways in *soleus* and *gastrocnemius* samples. This technology can detect femtomoles of protein with coefficients of variations as low as 5–10% (Dupuy et al., 2009; Troncale et al., 2012).

Protein extraction was performed as previously described (Rondeau et al., 2015). Five serial sample dilutions, ranging from 2000 to $125\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$, with two replicates per dilution, were printed for each sample onto nitrocellulose-covered slides (Supernova, Grace Biolabs, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) using a dedicated arrayer (2470 arrayer, Aushon Biosystems, Billerica, MA, USA). Arrays were labeled with specific antibodies recognizing studied proteins (see Supplementary Table S1 for the list of antibody references) or without primary antibody (negative control), using an Autostainer Plus (Dako, Glostrup, Denmark) and then with horseradish peroxidase-coupled secondary antibodies (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Newmarket, UK) (Rondeau et al., 2015). All primary antibodies used in RPPA had been previously tested by western blotting to assess their specificity for the protein of interest. To amplify the signal, slides were incubated with Bio-Rad Amplification Reagent (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) (Rondeau et al., 2015). The arrays were then probed with IRDye 800CW Streptavidin (LiCOR). For staining of total protein, arrays were incubated 5 min in 0.00005% fast green FCF (Sigma-Aldrich) (Rondeau et al., 2015). The processed slides were dried by centrifugation and scanned using an Innoscan 710-AL microarray scanner (Innopsys, Carbonne, France). Spot intensity was determined with the MicroVigene software (VigeneTech Inc., Carlisle, MA). Raw data were normalized using Normacurve (Troncale et al., 2012), which normalizes for fluorescent background per spot, a total protein stain, and potential spatial bias on the slide. The signal transduction pathways were generated through the use of Ingenuity® Pathway Analysis (IPA®) (Qiagen, Les Ulis, France) from RPPA data.

2.5. Statistical analysis

Data were expressed as mean \pm SEM and tested for distribution normality using Shapiro-R 3.2.2 software. Statistical analyses were then performed, using an unpaired two-tailed *t*-test for comparison between groups, and one-way analysis of variance, followed by the Newman-Keuls *post hoc* test for comparison among the same group with GraphPad Prism 5.00 software (San Diego, California, USA). All *p* values were two-tailed and $p < 0.05$ was considered significant.

3. Results

3.1. Acceleration-based training improves $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ as well as maximal running speed and distance

The death of 3 control rats with low $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ at the beginning of the protocol, and the removing of the corresponding $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ data in the

control group led to a nonsignificant lower $\dot{V}O_{2peak}$ in trained rats as compared to controls at week 0 ($p = 0.08$) as well during the following weeks. All comparisons of the effects of acceleration-based training were performed among the same experimental group.

In the control group, no change in $\dot{V}O_{2peak}$ was observed during the 8 weeks of the protocol. It is apparent, however, that the maximal running speed and distance between week 0 and 2 were slightly increased by 8.9% ($p < 0.01$) and 25.1% ($p < 0.01$) respectively, probably because

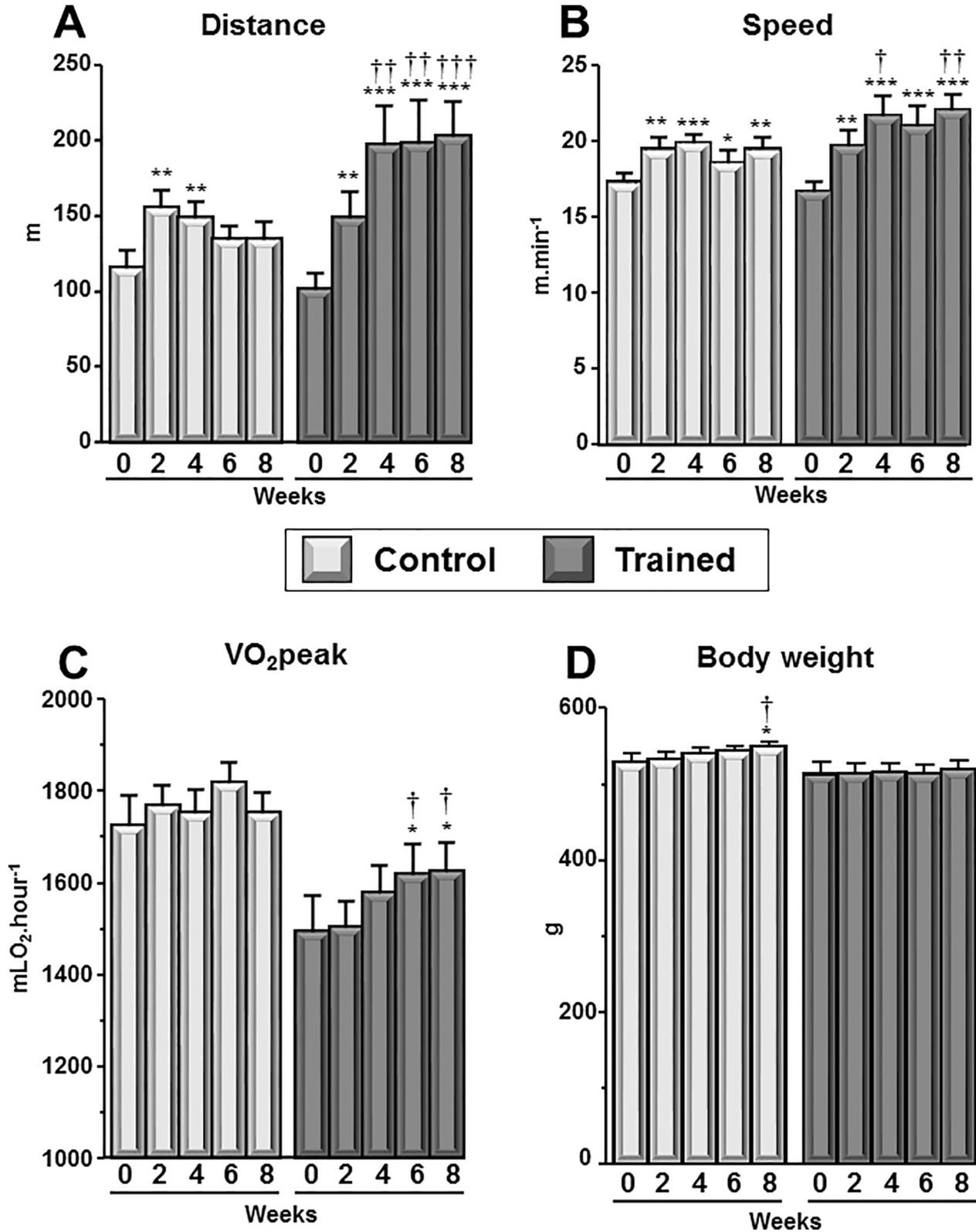


Fig. 1. Maximal running speed (A), maximal running distance (B) and $\dot{V}O_{2peak}$ (C) achieved in incremental tests and body weight (D) at week 0 before the start of training and then after 2, 4, 6 and 8 weeks for control and trained groups. Data are presented as mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** p value < 0.01 , *** $p < 0.001$ vs week 0 of the same experimental group; † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ vs week 2 of the same experimental group.

the animals became habituated to the treadmill. However, running speed did not result in any further increase between week 2 and week 8, and running distance returned to the week 0 value at week 8 (Fig. 1A and B). Body weight was slightly increased in control rats (+3.7%, $p < 0.05$) probably resulting from the sedentariness of control rats added to the continuous growing of body weight in Wistar rats between 22 and 24 mo.

In trained rats, maximal running distance, maximal running speed and $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ (Fig. 1A, B and C, respectively) increased during the acceleration-based training. At weeks 6 and 8, $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ was increased by 5.7% and 6.6% respectively ($p < 0.05$), as compared to week 0 (Fig. 1C). Running speed at $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ was increased by 13.4% ($p < 0.01$), 25.2% ($p < 0.001$), 20.8% ($p < 0.001$) and 29.7% ($p < 0.001$) at weeks 2, 4, 6 and 8 vs. week 0 (Fig. 1B). Running distance was increased from 39.1% ($p < 0.01$), 82.7% ($p < 0.001$), 82.6% ($p < 0.001$), and 95.1% ($p < 0.001$) at weeks 2, 4, 6 and 8 vs. week 0 (Fig. 1A). Acceleration-based training prevented the age-related growing in body weight in Wistar rats (Fig. 1D).

3.2. Acceleration-based training improves cardiac function

Echocardiographic measurements showed that our model of training induced thickening of the cardiac wall (Fig. 2). Both the interventricular septum and the LV posterior wall thicknesses in diastole were increased in senescent trained rats, compared with the control group (Fig. 2B). This training-associated hypertrophy is concentric, as indicated by the enhanced h/r ratio (0.53 vs. 0.41 in control rats) (Fig. 2B).

While the heart rate did not vary between groups, both the LV ejection fraction (+8.7%; $p < 0.05$) and the LV fractional shortening (+15.1%; $p < 0.01$) increased in senescent trained rats as compared to control animals (Fig. 2B).

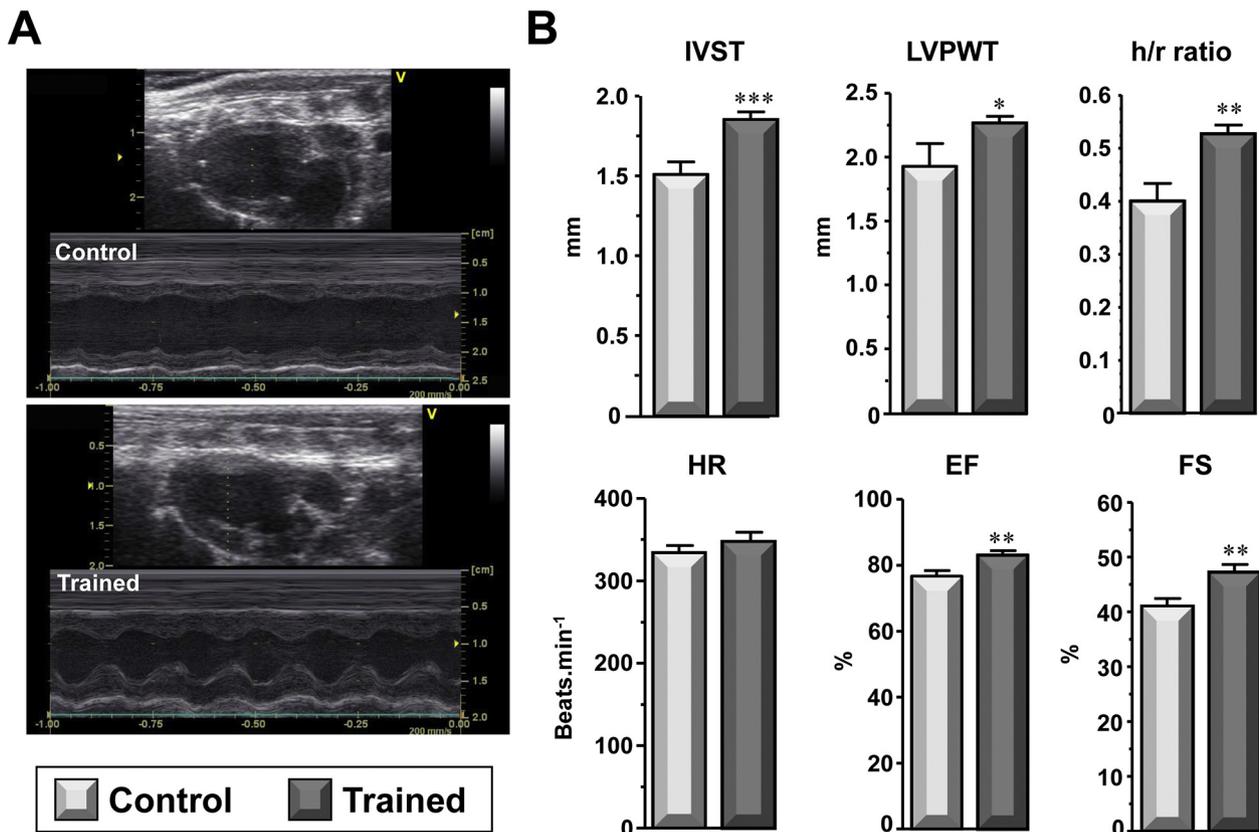


Fig. 2. A. representative M-mode echocardiography of a control and trained rat hearts. B. echocardiographic measurements of interventricular septum thickness (IVST) in diastole, left ventricular posterior wall thickness in diastole (LVPWT) in diastole, thickness/radius (h/r) ratio, the heart rate (HR), the ejection fraction (EF) and the fractional shortening (FS) in control and trained rats. All results are the mean of at least three separate cardiac cycles. The percent fractional shortening was calculated from M-mode measurements as follows: % Fractional shortening = 100 [(LV end-diastolic diameter - LV end-systolic diameter)/LV end-diastolic diameter]. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs control group.

3.3. Acceleration-based training improves muscle mechanical efficiency

Measurements of muscle mechanics showed that strength ($p < 0.05$) (Fig. 3A) and maximal mechanical efficiency (Fig. 3A) ($p < 0.05$) of *soleus* from trained rats were significantly higher than those of control rats. Trained *gastrocnemius* muscle only exhibited a higher maximal mechanical efficiency (Fig. 3A) ($p < 0.01$) when compared to control. Peak shortening velocity (V_{max}) was unchanged by training (Fig. 3A).

3.4. Phospho-Smad2/3 and IGF1 receptor/mTOR/Phospho-Akt are inversely modulated by acceleration-based training

Analysis of signaling molecules using RPPA showed that the main fold protein changes were Phospho-Smad2/3 (0.6), FOXO3/FKHLR1 (0.7), IGF1 Receptor (IGF1R) β (1.6), Phospho-Akt (ser 473) (1.5) and Bcl-xL (0.7) in trained vs. control *soleus* muscles (Fig. 3B). In trained vs. control *gastrocnemius* muscles, the main fold protein changes were Phospho-Smad2/Smad3 (0.7), FOXO3a/FKHLR1 (0.7), Phospho-Akt ser 473 (2.0), IGF-1 R β (1.7), Phospho-mTOR (1.6), I κ B α (1.6), Phospho-NF κ B (1.4), Phospho-VEGFR2 (1.3), TAB2 (1.3), FOXO1 (1.3), HSP70-1A (1.2), Cleaved Notch1 (1.2) and CaMKII (0.8) (Fig. 3B).

Although most individual proteins did not reach significance in our analyses due to the small study size, they reveal interesting signaling patterns when taken together. To illustrate this, a scheme using protein fold change and individual relationships curated from the literature was constructed using IPA® (Fig. 3C). As shown in Fig. 3C, the IGF1R β /Phospho-mTOR/Phospho-Akt pathway was up-regulated in *gastrocnemius* and to a lesser extent in *soleus* muscle; Phospho-Smad2/Smad3, which can act as an inhibitor of Akt, was down-regulated in both muscles.

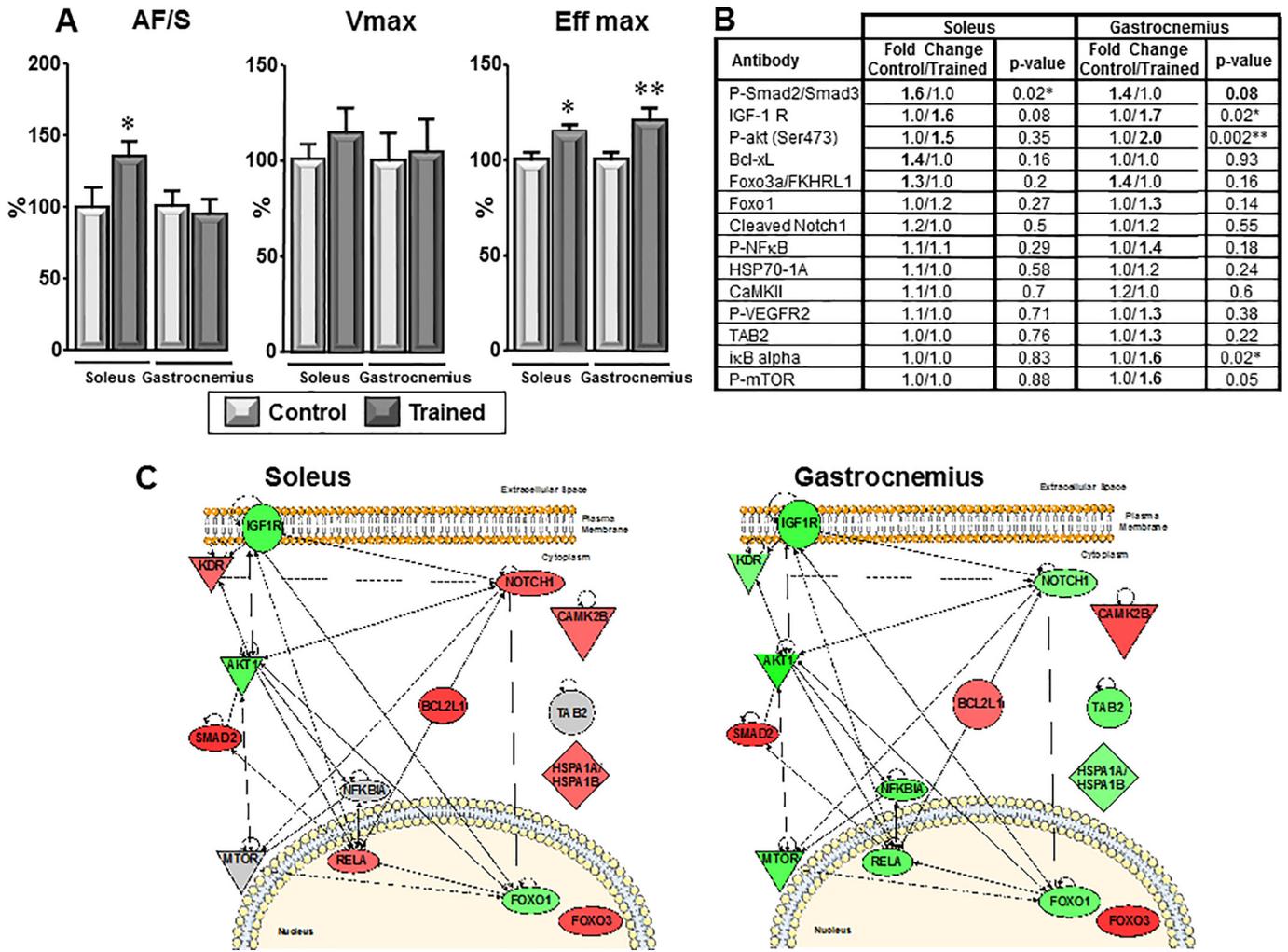


Fig. 3. A. peak shortening velocity (V_{max}), active force normalized to cross-sectional area (AF/S) and maximal mechanical efficiency (Eff_{max}) in *gastrocnemius* and *soleus* muscles. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control group. B. Signaling molecules investigated in *soleus* and *gastrocnemius* muscle extracts using reverse phase protein assay (RPPA). C. Schematic representations of fold changes measured in *soleus* and *gastrocnemius* muscles between signaling molecules using IPA®. The green color represent a fold change superior to one compared to control and the color red represent a fold change inferior to one compared to control. The intensity of the color is proportional to the fold change value.

4. Discussion

In senescent rats, our new model of acceleration-based training improves performance, oxidative capacity, cardiac function, and skeletal muscle mechanics with 20–30 min of training, divided into three bouts performed during the day, 2 days a week, for 2 months. Our results show that acceleration is an important stimulus of training. It is able to induce adaptive cardiac hypertrophy and molecular adaptations to training in skeletal muscle, such as activation of the IGF1R/Akt/mTOR and NFκB pathways, and a decrease in Phospho-Smad2/Smad3 protein level.

The improvement in $\dot{V}O_{2peak}$ in senescent rats in only 6 weeks' time with our training protocol is an important finding for two reasons: first, the age-associated decrease in maximal aerobic power can severely limit physical performance; second, it is correlated with mortality (Hawkins and Wiswell, 2003). Using a meta-analysis, Huang et al. (2005) reported that three sessions of moderate intensity per week (between 60% and 70% of $\dot{V}O_{2max}$) for 20 weeks are needed in older humans to improve $\dot{V}O_{2max}$. Further to this, we recently demonstrated that the increase in $\dot{V}O_{2max}$ is possible in a 105-year-old man trained with HIT cycling (Billat et al., 2016). Our results support previous findings regarding HIT. HIT with exercise sessions of 15 bouts of 30 s, each at an intensity of 90–95% of the maximal heart rate, can also improve

$\dot{V}O_{2max}$ in young people (Arboleda Serna et al., 2016). Running speed and distance were increased in only four weeks in our study, but a HIT regimen improved performance after only five exercise sessions in mice (Niel et al., 2016). These results suggest that acceleration-based training induces both cardiovascular and muscular adaptations. In light of our original hypothesis, which focused on a short period of acceleration, these results could be explained by the multiple changes in speed between intensity interval training bouts.

Acceleration-based training induces physiological cardiac remodeling characterized by a concentric hypertrophy and increased systolic function assessed by both fractional shortening and ejection fraction. Such an increase in left ventricular wall thickness, also reported after resistance training (Barauna et al., 2008), occurs by repeated elevations of arterial pressure during exercise sessions. In young rats, cardiac hypertrophy induced by resistance training results from direct activation of the AT1 receptor expression by mechanical load through local activation of the renin-angiotensin system (Barauna et al., 2008). However, many other molecular pathways proposed for HIT-induced cardiac hypertrophy may be involved in the improved pump function, such as improvement in cardiomyocyte calcium handling, and/or activation of PI3K/Akt/mTOR, HSP70, and MEF2 signaling (Wisloff et al., 2009). All these pathways remain to be investigated in our training model, especially during aging.

The decrease in mechanical efficiency has been reported to be directly related to the loss of fast type fibers (Lecarpentier et al., 1998), which has been shown to be involved in senescence-induced skeletal muscle sarcopenia (Witard et al., 2016). Our results show a higher mechanical efficiency in both the *soleus* and the *gastrocnemius* muscles, suggesting that acceleration-based training could reduce this loss. Skeletal muscle strength depends on both muscle typology and fiber size. The higher strength of trained *soleus* suggests a higher number of fast fibers or a higher muscle fiber size. Further investigation is needed to clarify this point and to understand the molecular mechanisms involved. The causes of sarcopenia during skeletal aging are multifactorial and complex. Inflammation, oxidative stress, hormones, protein synthesis, and DNA damage are interrelated to induce muscle aging. In order to identify the factor by which acceleration-based training can counteract the effects of aging, we screened the expression of different signaling molecules using RPPA.

Our results largely suggest that our new acceleration-based training is able to activate the IGF1R/Akt/mTOR pathway, as previously reported after resistance training and HIT (Coffey and Hawley, 2007; Kim and Yi, 2015). In *gastrocnemius*, the IGF1R/Akt/mTOR pathway is up-regulated to a greater extent than in *soleus*, whereas developed tension is not yet increased after training, in contrast to *soleus*. These results suggest that molecular mechanisms leading to muscle hypertrophy are in progress, whereas in *soleus* adaptive hypertrophy is completed. Moreover, Phospho-Smad2/3 in both trained *soleus* ($p = 0.02$) and *gastrocnemius* ($p = 0.08$) was lower compared to control muscles. The inhibition of Akt by Smad2/Smad3 has been largely implicated in cancer-induced cachexia (Sakuma et al., 2015). In addition, myostatin and TGF- β , which play central roles in muscle remodeling after resistance training, could inhibit Akt through Smad2/Smad3 (Gumucio et al., 2015). Furthermore, I κ B α and Phospho-NF κ B were up-regulated after training, indicating that inflammation might also be implicated. RPPA highlighted several pathways that can be triggered by acceleration; however, further investigation is clearly required to clarify the mechanisms involved.

In conclusion, we proposed a new mode of training based on acceleration, which can counterbalance age-associated impairment in $\dot{V}O_{2\max}$ and trigger cellular and molecular mechanisms leading to improvement of cardiac and skeletal function. Change of speed might be an important stimulus for biological adaptations to training rather than duration and intensity and has to be taken into consideration when preparing personalized protocols of training in elderly. Moreover, such short training could be an easy long term training in order to “aging well” and remaining healthy.

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2017.05.002>.

References

- Akbani, R., Becker, K.F., Carragher, N., Goldstein, T., de Koning, L., Korf, U., Liotta, L., Mills, G.B., Nishizuka, S.S., Pawlak, M., Petricoin III, E.F., Pollard, H.B., Serrels, B., Zhu, J., 2014. Realizing the promise of reverse phase protein arrays for clinical, translational, and basic research: a workshop report: the RPPA (reverse phase protein array) society. *Mol. Cell. Proteomics* 13, 1625–1643.
- Arboleda Serna, V.H., Arango Velez, E.F., Gomez Arias, R.D., Feito, Y., 2016. Effects of a high-intensity interval training program versus a moderate-intensity continuous training program on maximal oxygen uptake and blood pressure in healthy adults: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 17, 413.
- Barauna, V.G., Magalhaes, F.C., Krieger, J.E., Oliveira, E.M., 2008. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 295, R381–R387.
- Betik, A.C., Thomas, M.M., Wright, K.J., Riel, C.D., Hepple, R.T., 2009. Exercise training from late middle age until senescence does not attenuate the declines in skeletal muscle aerobic function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 297, R744–R755.
- Billat, V.L., Dhonneur, G., Mille-Hamard, L., Le Moyec, L., Momken, I., Launay, T., Koralsztein, J.P., Besse, S., 2016. Case studies in physiology: maximal oxygen consumption and performance in a centenarian cyclist. *J. Appl. Physiol.* <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00569.2016>, [jap 00569 02016](http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00569.2016).
- Carillion, A., Feldman, S., Jiang, C., Atassi, F., Na, N., Mougnot, N., Besse, S., Hulot, J.S., Riou, B., Amour, J., 2015. Overexpression of cyclic adenosine monophosphate effluent protein MRP4 induces an altered response to beta-adrenergic stimulation in the senescent rat heart. *Anesthesiology* 122, 334–342.
- Carreira, S., Le Dinh, M., Soubeyrand, M., Poloujadoff, M.P., Riou, B., Similowski, T., Coirault, C., Demoule, A., 2014. Diaphragmatic function is preserved during severe hemorrhagic shock in the rat. *Anesthesiology* 120, 425–435.
- Coffey, V.G., Hawley, J.A., 2007. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med.* 37, 737–763.
- Dupuy, L., Gauthier, C., Durand, G., Musnier, A., Heitzler, D., Herledan, A., Sakanyan, V., Crepieux, P., Reiter, E., 2009. A highly sensitive near-infrared fluorescent detection method to analyze signalling pathways by reverse-phase protein array. *Proteomics* 9, 5446–5454.
- Filippini, L.L., Teixeira, V.N., da Silva, M.P., Miraglia, F., da Silva, F.S., 2015. Sarcopenia: a predictor of mortality and the need for early diagnosis and intervention. *Aging Clin. Exp. Res.* 27, 249–254.
- Gumucio, J.P., Sugg, K.B., Mendias, C.L., 2015. TGF-beta superfamily signaling in muscle and tendon adaptation to resistance exercise. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 43, 93–99.
- Hawkins, S., Wiswell, R., 2003. Rate and mechanism of maximal oxygen consumption decline with aging: implications for exercise training. *Sports Med.* 33, 877–888.
- Huang, G., Gibson, C.A., Tran, Z.V., Osness, W.H., 2005. Controlled endurance exercise training and $\dot{V}O_{2\max}$ changes in older adults: a meta-analysis. *Prev. Cardiol.* 8, 217–225.
- Hwang, C.L., Yoo, J.K., Kim, H.K., Hwang, M.H., Handberg, E.M., Petersen, J.W., Christou, D.D., 2016. Novel all-extremity high-intensity interval training improves aerobic fitness, cardiac function and insulin resistance in healthy older adults. *Exp. Gerontol.* 82, 112–119.
- Kim, J.S., Yi, H.K., 2015. Intermittent bout exercise training down-regulates age-associated inflammation in skeletal muscles. *Exp. Gerontol.* 72, 261–268.
- Laukkanen, J.A., Lakka, T.A., Rauramaa, R., Kuhanen, R., Venalainen, J.M., Salonen, R., Salonen, J.T., 2001. Cardiovascular fitness as a predictor of mortality in men. *Arch. Intern. Med.* 161, 825–831.
- Lecarpentier, Y., Chemla, D., Blanc, F.X., Pourny, J.C., Joseph, T., Riou, B., Coirault, C., 1998. Mechanics, energetics, and crossbridge kinetics of rabbit diaphragm during congestive heart failure. *FASEB J.* 12, 981–989.
- Niel, R., Ayachi, M., Mille-Hamard, L., Le Moyec, L., Savarin, P., Clement, M.J., Besse, S., Launay, T., Billat, V.L., Momken, I., 2016. A new model of short acceleration-based training improves exercise performance in old mice. *Scand. J. Med. Sci. Sports* <http://dx.doi.org/10.1111/sms.12809>.
- Rondeau, S., Vacher, S., De Koning, L., Briaux, A., Schnitzler, A., Chemlali, W., Callens, C., Lidereau, R., Bieche, I., 2015. ATM has a major role in the double-strand break repair pathway dysregulation in sporadic breast carcinomas and is an independent prognostic marker at both mRNA and protein levels. *Br. J. Cancer* 112, 1059–1066.
- Sakuma, K., Aoi, W., Yamaguchi, A., 2015. Current understanding of sarcopenia: possible candidates modulating muscle mass. *Pflugers Arch.* 467, 213–229.
- Troncale, S., Barbet, A., Coulibaly, L., Henry, E., He, B., Barillot, E., Dubois, T., Hupe, P., de Koning, L., 2012. NormaCurve: a SuperCurve-based method that simultaneously quantifies and normalizes reverse phase protein array data. *PLoS One* 7, e38686.
- Wisloff, U., Ellingsen, O., Kemi, O.J., 2009. High-intensity interval training to maximize cardiac benefits of exercise training? *Exerc. Sport Sci. Rev.* 37, 139–146.
- Witard, O.C., McGlory, C., Hamilton, D.L., Phillips, S.M., 2016. Growing older with health and vitality: a nexus of physical activity, exercise and nutrition. *Biogerontology* 17, 529–546.

Titre : Effets métaboliques et physiologiques d'un entraînement en accélération chez la souris âgée et effets de l'âge sur les capacités physiques de la souris déficiente à la créatine kinase.

Mots clés : vieillissement, entraînement, accélération, métabolismes énergétiques, créatine kinase

Résumé : La quête de l'augmentation de l'espérance de vie chez l'homme inspire depuis longtemps les travaux de recherche, en particulier en biologie. Au-delà de la notion de mortalité, celles de la morbidité et de l'espérance de vie active et indépendante sont aujourd'hui au centre des enjeux de santé publique. En effet, la perte d'autonomie chez les personnes âgées nous oriente vers un objectif d'amélioration de l'espérance de vie en bonne santé. L'activité physique est un facteur fondamental du bien-être de l'individu, impactant aussi bien les performances physiques que les diverses pathologies (diabète, pathologies cardiaques). Chez la population âgée, la nécessité d'obtenir des résultats rapides, sans souffrance ni longs entraînements nous a mené à notre première étude. Celle-ci a porté sur l'application d'un nouveau protocole d'entraînement à court terme utilisant l'accélération chez les souris âgées. Les résultats obtenus nous ont montré une amélioration des performances physiques et de l'ensemble des métabolismes énergétiques, tout en étant plus efficace qu'un entraînement en endurance et plus adapté qu'un entraînement en intervalles.

De plus, devant l'intérêt récent que suscitent les transferts énergétiques dans la régulation des métabolismes énergétiques et dans le processus du vieillissement, nous nous sommes intéressés à la compréhension des mécanismes des flux énergétiques, et notamment à celui faisant intervenir la créatine kinase mitochondriale. Notre seconde étude a ainsi analysé les capacités physiques et physiologiques de souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale de 6 à 18 mois. Nos résultats suggèrent une utilisation majoritaire du métabolisme lipidique et un maintien des capacités physiques chez ces souris déficientes à la créatine kinase mitochondriale. La compréhension des mécanismes du flux énergétique et de leur importance sur les capacités physiques au cours du vieillissement permettrait de mieux concevoir les futurs protocoles d'entraînement, tel que l'entraînement en accélération nous ouvrant de nouvelles perspectives dans l'amélioration des capacités physiques et de l'autonomie au cours du vieillissement.

Title: The metabolic and physiologic effects of an acceleration training in old mice, and effect of aging on physical capacities of mice deficient for creatine kinase.

Keywords: aging, training, acceleration, energetic metabolism, creatine kinase

Abstract: For a long time, the increase in life expectancy in humans inspires research, especially in biology. Beyond the notion of mortality, those of morbidity and active and independent life expectancy are at the center of public health issues. However, faced with the decrease in physical capacity and the increase in the number of diseases during aging, interest is now focused on improving the quality of life. Indeed, the loss of autonomy in the elderly directs us towards a goal of improving the healthspan. Physical activity is a fundamental factor in the well-being, impacting physical performance as well as different pathologies (diabetes, cardiac pathologies). In the elderly population, the necessity to reach fast results, without suffering or long time training led to our first study. This one focused on a new model of short acceleration-based training protocol in elderly mice. The results showed an improvement in physical performance and in the whole of the energetic metabolisms, while being

more efficient than endurance training and more suitable than interval training. Moreover, given the recent interest in energy transfers in the regulation of energetic metabolisms and in the aging process, we were interested in understanding the mechanisms of energy flux and in particular the one involving mitochondrial creatine kinase. Our second study analyzed the physical and physiological capacity of mitochondrial creatine kinase deficient mice from 6 to 18 months. Our results suggest a predominant lipid metabolism and showed a conservation of physical abilities in these mitochondrial creatine kinase deficient mice. Knowledge of the mechanisms of energy flux and their importance to physical capacities during aging would lead to better design future training protocols, such as our acceleration training, which opens new perspectives in improvement of physical capacity and autonomy during aging.

