

Thèse de Doctorat

Lilian LACOURPAILLE

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université de Nantes
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : *Cognition, Éducation, Interactions (504)*

Discipline : *Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (74^{ème} section)*

Spécialité : *Physiologie/Biomécanique*

Unité de recherche : *Laboratoire « Motricité, Interactions, Performance » (EA 4334)*

UFR STAPS NANTES, 25 bis boulevard Guy MOLLET, 44322 NANTES

Soutenue le *11 Décembre 2014*

Caractérisation des propriétés contractiles et élastiques du muscle : Application à l'évaluation des patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne

JURY

Rapporteurs :	Sabine BENSAMOUN , Chargée de recherche, CNRS, Université de Compiègne Nicola MAFFIULETTI , Chercheur, Clinique Schulthess (Suisse)
Examineurs :	Yann PÉRÉON , Professeur d'université – Praticien Hospitalier, Université de Nantes Jean-Yves HOGREL , Chercheur, Institut de Myologie
Invité :	Arnaud GUÉVEL , Professeur d'université, Université de Nantes
Directeur de Thèse :	Antoine NORDEZ , Maître de conférences, Université de Nantes
Co-directeur de Thèse :	François HUG , Chercheur, The University of Queensland (Australie)

AVANT-PROPOS

Les travaux présentés dans ce manuscrit de thèse ont été réalisés au sein du laboratoire « Motricité, Interactions, Performance » (EA 4334), de l'UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives de l'Université de Nantes, et dans le service d'Explorations Fonctionnelles du C.H.U. Nord Laënnec (dirigé par le Pr. Péréon), à Saint-Herblain. Une partie de ces expérimentations a été menée en collaboration avec le laboratoire « Physiologie et évaluation neuromusculaire » (dirigé par le Dr. Hogrel) de l'Institut de Myologie, situé au sein du groupe hospitalier de la Pitié-Salpêtrière, à Paris.

L'aboutissement de ce projet est le fruit des échanges que j'ai eu avec de nombreuses personnes et de leur soutien. Par ces quelques lignes, je tiens à vous faire part de ma gratitude et vous remercier pour votre contribution dans ce travail.

Je ne peux envisager d'adresser ces premiers remerciements à d'autres personnes que mes directeurs de thèse, Antoine Nordez et François Hug. Par où commencer... Je tiens tout d'abord à vous remercier de m'avoir encadré depuis la Licence 3, et permis de réaliser ce projet de thèse passionnant, dans des conditions optimales. Effectivement, sachez que si je pouvais changer quelque chose à ces trois années, je ne changerais rien. Ce fût un immense plaisir de travailler avec vous et d'apprendre à vos côtés. Vous avez été constamment présents durant ces trois années, et grâce à votre rigueur, patience, pédagogie et vos connaissances, j'ai pu apprendre la démarche scientifique **DYNAMIQUE**.

Antoine, je te remercie pour ton écoute, ta patience, tes remarques toujours pertinentes (à part sur l'utilisation des produits « pomme »), ta bonne humeur, et les valeurs scientifiques que tu m'as transmises. J'ai partagé d'excellents moments à tes côtés, et le congrès de l'ISB au Brésil est l'une de ces expériences mémorables (*il n'a pas compris la question...*). *Merci pour tout.*

François, ne t'inquiète pas, je vais aller à l'essentiel (tu me connais...). Je souhaite te remercier pour ta disponibilité (H24, 7J/7,...), ton dynamisme, ton empathie, et ton perfectionnisme. Un grand merci pour m'avoir permis de traverser le monde et découvrir une autre dimension de la recherche, mais aussi des horaires de soirée... *il y a trop d'ambiance !!! oui, il est 21h12 ! À quand la CIFRE avec l'Exchange Hotel ?* Je sais que tu as un énorme projet. *Merci pour tout.*

J'exprime ma sincère reconnaissance aux Drs. Sabine BENSAMOUN et Nicola MAFFIULETTI qui ont accepté d'être rapporteurs de cette thèse. C'est un honneur que vous examiniez mon travail.

Pr. Yann PÉREON, vous avez accepté de présider ce jury et d'examiner avec votre grande expertise mon travail de recherche, recevez ici l'expression de toute ma gratitude et de mes sentiments les plus respectueux et dévoués. Je tiens également à vous remercier pour votre disponibilité, ainsi que l'énergie et le temps que vous avez alloués à une partie de ce projet, me permettant de travailler dans des conditions optimales au sein de votre service.

Pr. Arnaud GUÉVÉL, je te remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail de thèse. C'est un honneur et un plaisir d'avoir ton avis et d'échanger avec toi. Merci pour tes qualités humaines et ta proximité avec les doctorants que tu construis savamment au fil des soirées.

Dr. Jean-Yves HOGREL, merci d'avoir accepté d'assister à cette soutenance de thèse et d'apporter ton expertise clinique et scientifique. Je te remercie sincèrement pour ta disponibilité et les échanges que nous avons pu avoir.

Je tiens à remercier chaleureusement, Mme Raphaële CHASSERIEAU pour l'organisation des expérimentations à l'hôpital Nord Laënnec.

Je remercie vivement Dr. Armelle MAGOT et Dr. Guillemette FAYET pour leur implication dans le recrutement et les visites d'inclusions des patients. Par ailleurs, ce fût un plaisir d'échanger avec vous sur la physiologie musculaire mais également à propos de sujets plus « légers » dans le cadre des réunions « *Myostorming* ».

J'adresse également un remerciement à mes futurs collègues INSEPiens, Gaël, Giuseppe, Antoine, et Alexia avec qui j'ai eu le plaisir de collaborer à deux reprises au cours de cette thèse. Vous m'avez fait partager votre passion pour ce magnifique job et je suis extrêmement heureux de faire partie de l'équipe, *Voldemort* est désormais parmi vous... Nous allons faire de belles choses ensemble. Une mention spéciale à toi Gaël, pour les longues journées de manips que nous avons réalisées. Ton dynamisme, ta bonne humeur, et tes feuilles de manips plastifiées nous tirent tous vers le haut.

Evidemment, je souhaite remercier chaleureusement tous les membres du laboratoire MIP, les Nantais et les Manceaux, pour l'atmosphère scientifique et humaine qui y règne. Ce fût un plaisir de travailler à vos cotés. Je tiens à remercier plus particulièrement Jacques pour avoir tenté d'améliorer ma culture générale au cours de ces trois années, j'ai tout de même retenu que « *la science sans conscience n'est que ruine de l'âme* ». Sylvain, mon tuteur pédagogique (tu l'apprends peut-être en me lisant), c'était un plaisir de bosser avec toi sur la filière ES, j'ai beaucoup appris, et je te remercie pour tout ce que tu as fait pour moi (notamment il y a peu), je te suis très reconnaissant. Marc, Christophe, et Thibault, nous avons fréquemment échangé au cours de ces années, un grand merci pour votre gentillesse et tout ce que vous avez pu faire pour moi. Merci à Véro pour avoir géré les 459 bons de commande *Europcar*. Ta bonne humeur et ta réactivité facilitent les choses. À tous ceux que j'ai pu croiser au sein de ce laboratoire et qui suivent différents chemins (Sandro, Filiz, Agathe, Killian, Alexandre F, Julien F, Sylvain C, Nicolas T). Poney, tu fais partie de cette catégorie de personnes mais je te remercie plus directement pour tout ce que l'on a vécu, et je te souhaite bonne route à St-Etienne, n'oublie pas de respecter ton corps et tes oreilles...

J'en viens aux doctorants, Mathieu, Hugo V, Hugo H, Yannick, Valentin, Mehdi, Niels, Ricardo, Martin... et puis Vincent (tu es notre voisin !). Quel plaisir ça a été de partager cette incroyable expérience avec vous. Je suis obligé de débiter par remercier Mathieu et Hugo V, mes camarades de promo, mes collègues, mes frères. Grâce à vous j'ai passé 3 magnifiques années. Je n'ai pas la place d'écrire toutes les expériences que l'on a pu partager ensemble. Il y en a certaines qui mériteraient d'ailleurs d'être dessinées plutôt qu'écrites... Pour faire court, Mathieu, merci pour ces échanges autour du comportement du muscle en condition d'étirement, d'électrostimulation, mais surtout... de musculation. Hugo V, merci pour ton écoute, ton ouverture d'esprit, tes conseils orthographiques mais aussi « Mode ». Je vous souhaite le meilleur à tous les deux. Hugo H, j'ai beaucoup appris à tes cotés (Matlab, échographie, bras de levier, etc.) mais j'ai surtout apprécié ta patience et tes qualités didactiques auprès d'Eddy. Yannick, ta classe et tes qualités d'orateur me rendent impatient d'assister à ta soutenance, on va devoir faire payer l'entrée... Valentin, ce fût un plaisir de bosser avec toi sur DOFAS, dommage que tu prennes toute la couverture. Mehdi, merci pour ton aide diverse et variée, et toutes ces discussions de manips ou de soirées. En bref, merci pour ces échanges et épopées Nantaises, Mancelles, Sablaises, etc.

Un grand merci aux sujets et aux patients pour leur participation à ce travail, pour le temps

qu'ils ont bien voulu m'accorder et pour avoir accepté de recevoir quelques « décharges électriques » (*hein Bryan !*). Des remerciements spéciaux à Jonathan et Valentin pour leur aide sur les manip.

L'ensemble du personnel de l'UFR STAPS pour son aide technique et administrative.

Merci à tous mes potes du taekwondo, William, Damien, Max, Rémi et Jean-Rémi qui ont tous répondu présents pour participer à mes manip, mais aussi pour m'avoir remis les idées en place après une longue journée de travail.

Merci à mes parents et ma sœur, pour m'avoir permis d'en arriver là, pour votre soutien inconditionnel et tout ce que vous avez fait pour moi tout au long de mon parcours scolaire. *Je ne vous remercierai jamais assez.*

Merci à la famille ROCHER pour son soutien.

Enfin, j'adresse ces dernières lignes à Laëtitia, pour la remercier de sa patience, son soutien, son amour et pour tout ce que je n'ai pas la place d'écrire ici.

Ce travail a fait l'objet des publications et communications suivantes

Publications dans des revues scientifiques internationales à comité de lecture

Lacourpaille L, Hug F, Guével A, Péréon Y, Magot A, Hogrel JY, Nordez A. Non-invasive assessment of muscle stiffness in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle & Nerve*. (sous presse).

Lacourpaille L, Hug F, Guével A, Péréon Y, Magot A, Hogrel JY, Nordez A. (2014) New insights on contraction efficiency in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Journal of Applied Physiology*, 117(6):658-2.

Lacourpaille L, Nordez A, Hug F. (2013) Influence of stimulus intensity on electromechanical delay and its mechanisms. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 23(1):51-5.

Lacourpaille L, Hug F, Nordez A. (2013) Influence of passive muscle tension on electromechanical delay in humans. *PLoS ONE*, 8(1):e53159.

Communications dans des congrès internationaux avec actes

Lacourpaille L, Hug F, Maisetti O, Nordez A. (2013) Determination of Achilles tendon slack length using Supersonic Shear Imaging. *XXIV Congress of the International Society of Biomechanics*. August, Natal (Brazil).

Lacourpaille L, Bouillard K, Hug F, Hogrel JY, Nordez A. (2011) Reliability of muscle elasticity measurements at rest using a new elastographic technique based on Supersonic Shear Imaging. *IV International Congress of Myology*. May, Lille.

Communications dans des congrès nationaux avec actes

Lacourpaille L, Couturier G, Dibie C, Hug F, Nordez A, Guilhem G. (2013) Effets d'un exercice excentrique épuisant sur les propriétés mécaniques du muscle. *V^e Colloque Sport et Recherche en Pays de la Loire*. Octobre, Laval.

Lacourpaille L, Bouillard K, Hug F, Hogrel JY, Nordez A. (2011) Mesure de l'élasticité du muscle au repos. *IV^e Colloque Sport et Recherche en Pays de la Loire*. Novembre, La Roche sur Yon.

Autres publications

Publications dans des revues scientifiques internationales à comité de lecture

Freitas S, Andrade R, **Lacourpaille L**, McNair P, Nordez A. In vivo gastrocnemius stress relaxation at different muscle lengths. *European Journal of Applied Physiology*. (soumis).

Andrade R, **Lacourpaille L**, Freitas S, McNair P, Nordez A. Maximal ankle range of motion is influenced by hip angle but not ankle passive torque nor passive gastrocnemius tension. *The Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sport*. (en révision).

Crommert ME, **Lacourpaille L**, Heales L, Tucker KT, Hug F. Massage induces an immediate, albeit short-term, reduction in muscle stiffness. *The Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sport*. (sous presse).

Lacourpaille L, Nordez A, Hug F, Couturier A, Dibie C, Guilhem G. (2014) Time-course effect of exercise-induced muscle damage on localized muscle mechanical properties assessed using elastography. *Acta Physiologica*, 211(1):135-6.

Hug F, **Lacourpaille L**, Maïsetti O, Nordez, A. (2013) Slack length of gastrocnemius medialis and achilles tendon occurs at different ankle angles. *Journal of Biomechanics*, 46(14):2534-48.

Lacourpaille L, Hug F, Bouillard K, Hogrel JY, Nordez A. (2012) Supersonic shear imaging provides a reliable measurement of resting muscle shear elastic modulus. *Physiological Measurement*, 33(3)19-8.

Hug F, **Lacourpaille L**, Nordez A. (2011) Electromechanical delay measured during a voluntary contraction should be interpreted with caution. *Muscle & Nerve*, 44(5): 838.

Liste des principales abréviations utilisées dans ce manuscrit

ADM : *Abductor digiti minimi*

APO : *Adductor pollicis obliquus*

BB : *Biceps brachii*

cf. : *confer*

DEM : Délai électromécanique

Dm : Délai temporel de mouvement du muscle

Dt : Délai temporel de mouvement de la jonction myotendineuse

DMD : Dystrophie musculaire de Duchenne

e.g., : *exempli gracia* (par exemple)

EMG : Électromyographie

Eq. : Équation

ERM : Élastographie par résonance magnétique

ESM : Erreur standard de mesure

GM : *Gastrocnemius medialis*

i.e., : *id est* (c'est-à-dire)

RF : *Rectus femoris*

RMS : *Root mean square*

SSI : *Supersonic shear imaging*

TA : *Tibialis anterior*

TB : *Triceps brachii*

Tm : Transmission de force du muscle au segment osseux

VL : *Vastus lateralis*

OBJECTIFS	66
CHAPITRE II : MATÉRIELS & MÉTHODE.....	70
2.1 Outils de mesure et variables étudiées.....	71
2.1.1 Force et couple.....	71
2.1.2 Électromyographie de surface	72
2.1.3 Electromyostimulation.....	73
2.1.4 Module d'élasticité de cisaillement.....	73
2.1.5 Échographie ultrarapide.....	74
2.2 Analyse des données.....	75
2.2.1 Couple et force.....	76
2.2.2 Amplitude du signal EMG	76
2.2.3 Module d'élasticité de cisaillement.....	76
2.2.4 Signaux ultrasonores	77
2.2.5 Détection des débuts de mouvement et de production de force	78
2.3 Analyses statistiques	79
CHAPITRE III : CONTRIBUTIONS EXPÉRIMENTALES	80
CHAPITRE IV : DISCUSSION GÉNÉRALE	127
4.1 Évaluation des propriétés contractiles et élastiques chez les sujets sains.....	129
4.1.1 Délai électromécanique par échographie ultrarapide	129
4.1.2 Raideur musculaire par élastographie.....	130
4.2 Effets de la dystrophie musculaire de Duchenne sur les propriétés musculaires contractiles et élastiques.....	131
4.2.1 Force maximale électriquement évoquée	131
4.2.2 Processus électrochimiques du DEM.....	131
4.2.3 Processus mécaniques du DEM	132
4.2.4 Raideur musculaire par élastographie.....	135
4.3 Contributions et perspectives.....	139
4.3.1 Suivi longitudinal	139
4.3.2 Vers la caractérisation de nouveaux paramètres.....	141
4.3.3 Contributions pour l'évaluation « clinique » et le suivi de traitements	143
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE	146
RÉSUMÉ.....	164

FIGURE 1 : PATIENT ORIGINEL DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE (CAS 1, JOSEPH SARRAZIN) ...	15
FIGURE 2 : SIGNES CLINIQUES DE GOWERS.....	20
FIGURE 3 : SCHEMATISATION LONGITUDINALE DE LA DYSTROPHINE ET DU COMPLEXE PROTEIQUE ASSOCIE	23
FIGURE 4 : COUPES TRANSVERSALES DE LA CUISSE OBTENUE PAR IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE....	27
FIGURE 5 : SCHEMATISATION DES STRUCTURES IMPLIQUEES DANS LA TRANSMISSION DE FORCE LONGITUDINALE ET LATERALE INTRAMUSCULAIRE.	36
FIGURE 6 : ÉCHELLE MEDICAL RESEARCH COUNCIL DE TESTING MANUEL.....	41
FIGURE 7 : ÉVALUATION DE LA FONCTION MUSCULAIRE PAR DYNAMOMETRIE MANUELLE	43
FIGURE 8 : PRINCIPE D'ACQUISITION D'UNE LIGNE DE L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE	46
FIGURE 9 : PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT D'UN ECHOGRAPHE STANDARD VS. ECHOGRAPHE ULTRARAPIDE..	47
FIGURE 10 : MODELE DU COMPLEXE MUSCULO-TENDINEUX DE HILL MODIFIE A TROIS COMPOSANTES	49
FIGURE 11 : CARACTERISATION DE LA VARIABILITE SPATIALE DU DELAI ELECTROMECHANIQUE	51
FIGURE 12 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES CONTRIBUTIONS RELATIVES DES STRUCTURES ET MECANISMES IMPLIQUES DANS LE DEM	52
FIGURE 13 : LES ONDES PROGRESSIVES : ONDE DE COMPRESSION ET ONDE DE CISAILLEMENT.....	56
FIGURE 14 : MODULES ELASTIQUES DE COMPRESSION ET DE CISAILLEMENT.....	57
FIGURE 15 : MODULES DE COMPRESSION ET DE CISAILLEMENT.....	58
FIGURE 16 : IMAGES IRM ET CARTOGRAPHIES DU MODULE D'ELASTICITE DE CISAILLEMENT DU VASTUS MEDIALIS OBTENUES PAR ELASTOGRAPHIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE.	59
FIGURE 17 : ÉLÉMENTS DU PALPEUR ACOUSTIQUE.....	60
FIGURE 18 : PRINCIPE DE LA TECHNIQUE « SUPERSONIC SHEAR IMAGING ».....	62
FIGURE 19 : POSITIONNEMENT DU MEMBRE ET DE LA SONDE POUR LES 9 MUSCLES ETUDIÉS, ASSOCIÉS À L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE ET À LA CARTE D'ELASTICITE OBTENUE.....	63
FIGURE 20 : FIDELITE DES MESURES POUR LES DIFFERENTS MUSCLES ET CONDITIONS D'ETUDE	64
FIGURE 21 : SCHEMATISATION DU POSITIONNEMENT DU SUJET ET DU CAPTEUR DE FORCE LORS DES ETUDES #1 ET #2.....	72
FIGURE 22 : EXEMPLES DE CARTES D'ELASTICITE DU BICEPS BRACHII OBTENUES A 3 ANGLES ARTICULAIRES.....	74
FIGURE 23 : IMAGES ECHOGRAPHIQUES TYPIQUES DU VENTRE MUSCULAIRE (A) ET DE LA JONCTION MYOTENDINEUSE (B) OBTENUES A 4000 HZ	75
FIGURE 24 : CARTOGRAPHIE D'ELASTICITE ET ZONE D'INTERET DU GASTROCNEMIUS MEDIALIS D'UN PATIENT ATTEINT DE DMD	77
FIGURE 25 : DETERMINATION VISUELLE DU DEBUT DE PRODUCTION DE FORCE.....	78
FIGURE 26 : EFFET DE L'ANGLE ARTICULAIRE SUR LE DEM, DM ET DT	84
FIGURE 27 : INFLUENCE DE L'INTENSITE DE STIMULATION SUR DEM, DM ET DT	95
FIGURE 28 : REPRESENTATION DU DELAI ELECTROMECHANIQUE (DEM) ET DE SES COMPOSANTES ELECTROCHIMIQUES (DM) ET MECANIQUES (TM)	105
FIGURE 29 : RELATION ENTRE T _M ET L'AGE CHRONOLOGIQUE POUR LES DEUX POPULATIONS	106
FIGURE 30 : EFFET DE LA DMD SUR L'ECHOGENECITE ET L'ORGANISATION DES FASCICULES MUSCULAIRES A L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE	134
FIGURE 31 : MODULE D'ELASTICITE DES 6 MUSCLES ETUDIÉS (POSITION ETIREE) EN FONCTION DE L'AGE DES PARTICIPANTS (SUJETS CONTROLES ET PATIENTS ATTEINTS DE LA DMD).....	137
FIGURE 32 : ÉVOLUTION DU COUPLE DE FORCE A T _{+1AN} EN FONCTION DE L'AGE DES PARTICIPANTS	140
FIGURE 33 : ÉVOLUTION DU DELAI ENTRE LE DEBUT DE MOUVEMENT DES FASCICULES MUSCULAIRES ET LE DEBUT DE PRODUCTION DE FORCE OBTENU A T _{+1AN}	140
FIGURE 34 : INFLUENCE DE L'ORIENTATION DE LA SONDE ECHOGRAPHIQUE SUR LA RELATION ENTRE LE MODULE D'ELASTICITE ET L'ANGLE ARTICULAIRE.	142

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La contraction musculaire permet de générer un couple de force au niveau d'une articulation. Pour ce faire, le muscle doit, à partir d'un influx électrique, transformer une énergie chimique en une énergie mécanique. Cette force, créée au sein des fibres musculaires, est ensuite transmise à la jonction myotendineuse puis au segment osseux. L'altération d'un ou plusieurs mécanismes impliqués dans la création ou la transmission de force peut avoir des conséquences importantes sur les capacités motrices d'un individu et *in fine* sur son autonomie. Dans le cas des pathologies neuromusculaires, l'atteinte peut être localisée entre les motoneurons et le muscle, donnant lieu à une variété importante de symptômes. En 1851, Edward Meryon décrit une série de 8 patients présentant des difficultés à marcher, monter les marches, et une perte d'ambulation à l'adolescence (Emery et Emery, 1993). À l'autopsie, le Dr. Meryon rapporte l'intégrité de la moelle épinière et des nerfs mais documente une nécrose myofibrillaire, une destruction de l'architecture musculaire et de nombreuses infiltrations fibro-adipeuses (rapporté par Byrne et al., 2003). En 1868, Guillaume-Benjamin Amand Duchenne (Duchenne de Boulogne) décrit dans les Archives Générales de Médecine, une pathologie neuromusculaire caractérisée par une pseudohypertrophie des fléchisseurs plantaires (figure 1) et une accumulation importante de tissu graisseux au sein du muscle. Il la nomme « paraplégie hypertrophique congénitale » (Duchenne, 1867).

Désormais connu sous le nom de « dystrophie musculaire de Duchenne » (DMD), cette pathologie neuromusculaire est considérée comme la plus grave des myopathies, en raison sa prévalence (1 sur 3500 nouveau-nés de sexe masculin) mais aussi de son évolution rapide (perte de la marche entre 7 et 12 ans selon les formes) et inéluctable issue (majorité des décès avant la 3^{ème} décennie). La DMD demeure toujours en attente d'une stratégie thérapeutique curative. Toutefois, l'amélioration de la prise en charge, principalement pharmacologique et orthopédique, a permis d'augmenter significativement la qualité et l'espérance de vie des patients.

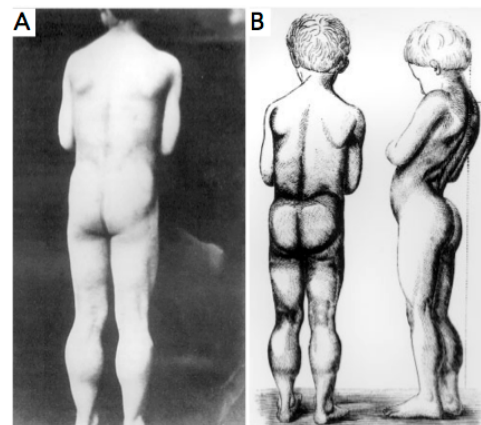


Figure 1 : Patient original de la dystrophie musculaire de Duchenne (Cas 1, Joseph Sarrazin). Photographie (A) et dessin (B) réalisés par Guillaume Duchenne. D'après Tyler, (2003).

Actuellement, les principaux indicateurs utilisés en clinique pour suivre l'évolution de cette pathologie sont, la capacité de production de force, et les échelles de mesure de la fonction motrice. Ces paramètres rendent compte des capacités fonctionnelles de différents groupes musculaires et renseignent sur l'autonomie des patients. Cependant, ces mesures globales ne permettent pas d'identifier le ou les muscles contribuant à l'échec de la tâche motrice. Pourtant, il serait particulièrement intéressant de déterminer quel(s) muscle(s) participe(nt) majoritairement à la chute de force globale ou à l'immobilisation d'une articulation, afin d'adapter la stratégie thérapeutique (e.g., soins kinésithérapiques, injection intramusculaire). Par ailleurs, l'évaluation des mécanismes et structures participant à la production de force d'un muscle cible permettrait de mieux documenter et comprendre l'évolution de la maladie. En ce sens, le développement de méthodes d'évaluation des mécanismes et structures musculaires affectés par la DMD constitue un enjeu majeur pour mieux comprendre la maladie. À terme, ces méthodes permettraient de quantifier les effets d'un essai clinique. Dans ce contexte, les récentes avancées technologiques du domaine de l'imagerie ultrasonore pourraient être particulièrement utiles.

Il y a une dizaine d'années, une équipe de chercheurs français de l'institut Langevin (École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles, Paris), a révolutionné le domaine de l'échographie en multipliant par 100 la cadence d'imagerie ultrasonore (i.e., échographie ultrarapide) (Bercoff et al., 2004 ; Deffieux et al., 2006, 2008). Cette avancée a permis d'étendre l'utilisation de l'échographie à l'étude de phénomènes très brefs, jusqu'ici impossible à quantifier *in vivo*. Par exemple, il est désormais possible de déterminer précisément différentes étapes de la contraction musculaire telles que le début de mouvement des fibres musculaires et de la jonction myotendineuse. À partir de cette technique, Nordez et al. (2009) ont pour la première fois quantifié les contributions relatives des processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans le délai électromécanique du *gastrocnemius medialis*. De la même manière, l'échographie ultrarapide a donné naissance à une méthode d'élastographie nommée Supersonic Shear Imaging (SSI), permettant de quantifier la raideur locale du muscle en temps réel (Bercoff et al., 2004).

L'objet de mon doctorat d'université est donc de caractériser les propriétés musculaires contractiles et élastiques chez les patients atteints de la DMD, dans le but de proposer des méthodes complémentaires d'évaluation et de suivi des patients. Ce manuscrit comporte 4 parties. La première partie dresse un état de l'art des effets de la DMD sur les propriétés musculaires structurelles et fonctionnelles, puis décrit les méthodes d'évaluation

utilisées en clinique. Cette partie documente également le principe de fonctionnement des deux techniques d'évaluation proposées et les mécanismes/structures investigués. Suit une deuxième partie qui présente le matériel et la méthodologie générale utilisés dans les travaux expérimentaux de cette thèse. La troisième partie expose les contributions expérimentales de ce doctorat. Elle s'articule en deux volets, contenant chacun deux études. Le premier volet vise à développer la technique d'évaluation du délai électromécanique par échographie ultrarapide chez des sujets sains, tandis que le second volet se centre sur l'évaluation des propriétés musculaires contractiles et élastiques chez des patients atteints de la DMD. Ce manuscrit s'achève par une discussion générale des résultats obtenus et de leurs perspectives fondamentales et cliniques.

CHAPITRE I

REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 La dystrophie musculaire de Duchenne

Les myopathies sont un groupe de maladies du muscle caractérisées par une atteinte de la fibre musculaire striée, sans lésion du système nerveux central ou périphérique associée. Parmi ces myopathies on retrouve les dystrophinopathies, spécifiques aux affections musculaires subséquentes à une anomalie du gène DMD. Depuis l'identification du gène DMD sur le chromosome X et de la protéine qu'il code nommée dystrophine (Hoffman et al., 1987 ; Ray et al., 1985), le spectre des pathologies associées à ce gène s'est considérablement élargi (Beggs, 1997). Les dystrophinopathies regroupent la DMD, la dystrophie musculaire de Becker (Koenig et al., 1989) et un ensemble de cardiomyopathies dilatées (Towbin et al., 1993).

De par sa prévalence (entre 1/3500 et 1/6000 des nouveau-nés de sexe masculin; Emery, 1991 ; Mendell et al., 2012), son évolution rapide (i.e., perte de la marche avant 13 ans, Cardamone et al., 2008) et ses conséquences motrices lourdement invalidantes, la DMD est considérée comme la plus grave des myopathies. La transmission récessive et la localisation du gène DMD sur le bras court du chromosome X (locus p21) conditionnent une atteinte presque unique des garçons (1/100 000 des nouveau-nés de sexe féminin; Norman et Harper, 1989). D'apparition sporadique (1/3 des patients) ou familiale (Perkins et Davis, 2002), la présence d'une ou plusieurs mutation(s) (plus de 2400 mutations différentes recensées par la base de données UMD-DMD ; Tuffery-Giraud et al., 2009) conduit, dans le cas de la DMD, à l'absence de dystrophine (Bonilla et al., 1988 ; Hoffman et al., 1987) ou à la production d'une protéine non-fonctionnelle (i.e., incomplète).

1.1.1 Manifestations cliniques de la DMD

1.1.1.1 *Symptômes initiaux et diagnostic*

Au delà d'un apprentissage parfois tardif de la marche (entre 15 et 18 mois), d'un nombre de chutes plus élevé que la moyenne et de difficultés à se relever, l'enfant atteint par la DMD présente peu de signes avant l'âge de 2-3 ans. En effet, la croissance staturo-pondérale est normale, même si quelques enfants atteints de DMD souffrent d'un retard de croissance dès 2 ans (Chabrol et al., 2010). Les premiers signes interpellant les parents apparaissent classiquement vers 2-3 ans. Les plus fréquemment rapportés sont un retard

psychomoteur, des chutes fréquentes, et une difficulté à courir et à monter les escaliers (Firth, 1983). Brooke et al. (1981) proposent une liste de 10 critères pour diagnostiquer la DMD :

- ◆ Sexe masculin
- ◆ Apparition d'une faiblesse musculaire avant 5 ans
- ◆ Faiblesse musculaire essentiellement proximale
- ◆ Pas de ptosis ou de faiblesse extraoculaire
- ◆ Pas d'anormalité sensorielle
- ◆ Hypertrophie apparente des fléchisseurs plantaires
- ◆ Rétractions musculaires/tendineuses progressives
- ◆ HyperCKémie d'au moins 10 fois la limite supérieur du sujet sain
- ◆ Électromyogramme/biopsie « myopathique »
- ◆ Présence d'un membre de la famille masculin affecté par la DMD

Le recours à la biopsie musculaire, acte chirurgical invasif, est quasiment incontournable dans le cadre du diagnostic. Elle est classiquement réalisée à 4-5 ans sur le *quadriceps* afin de confirmer, *via* une analyse histologique, l'absence de dystrophine et d'identifier l'anomalie génétique associée (Schouten et al., 2002).

1.1.1.2 Evolution clinique « classique »

À partir de 3 ans les troubles de la marche deviennent flagrants, l'enfant DMD se déplace sur la pointe des pieds, en se « dandinant ». Il éprouve aussi d'importantes difficultés à monter les marches et à se relever. Ce dernier symptôme est d'ailleurs mis en évidence *via* la manœuvre de Gowers, classiquement utilisée dans l'examen clinique de l'enfant DMD (figure 2).

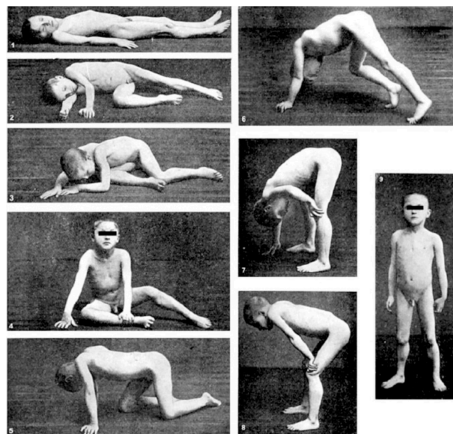


Figure 2 : Signes cliniques de Gowers. Série de photos provenant de l'hôpital Bicêtre, obtenue sur un enfant de 12 ans atteint de la DMD. La manœuvre utilisée par le patient pour se relever met en exergue sa faiblesse musculaire proximale, et plus particulièrement celle des releveurs du tronc. D'après Tyler, (2003).

Entre 3 et 6 ans, malgré l'apparition d'une lordose lombaire pathologique et de rétractions achilléennes (Tyler, 2003), l'utilisation des membres supérieurs est normale. Avant l'âge de 9 ans, 18% des patients souffrent d'une diminution de l'amplitude articulaire en flexion dorsale de la cheville, pour atteindre 97% après 13 ans (McDonald et al., 1995). Un recours aux orthèses nocturnes peut être bénéfique pour conserver l'amplitude de l'articulation de la cheville. À 7-8 ans l'atrophie musculaire devient marquée (Marden et al., 2005) et le score obtenu au testing musculaire manuel (TMM, voir section 1.1.4.4) diminue rapidement (McDonald et al., 1995). Le recours à une chirurgie orthopédique des rétractions, notamment achilléennes, peut retarder la perte de la marche (Emery, 2002).

La transition vers l'utilisation majoritaire du fauteuil roulant s'opère généralement entre 10 et 12 ans, lorsque la capacité de production de force des muscles proximaux des membres inférieurs ne permet plus de lutter contre la gravité. L'immobilisation va contribuer à l'apparition presque systématique d'une cyphoscoliose [i.e., déformation latérale (scoliose) et convexe postérieure (cyphose)] justifiant le recours à la chirurgie durant l'adolescence (e.g., arthrodeèse rachidienne) (Kinali et al., 2007). L'atteinte des muscles respiratoire survient généralement à l'adolescence (à partir de 12 ans en moyenne) et nécessite l'usage d'un système non-invasif de ventilation assistée. Le recours à un support ventilatoire sur trachéotomie est, dans la mesure du possible, différé. Cette prise en charge contribue, en partie, à retarder le décès du patient (Emery, 2002), toutefois son utilisation est controversée outre-Atlantique (Bach, 1997). Actuellement, la mort du patient est principalement d'origine cardiaque (27%) ou respiratoire (67,5%) (Kieny et al., 2013) et survient en moyenne à 27 ans (Eagle et al., 2007). Ces deux informations (âge et cause de la mort) sont tout de même particulièrement dépendante de l'expression clinique de la maladie (voir section suivante) et de la thérapeutique suivie par les patients (Kieny et al., 2013).

1.1.1.3 Variabilité interindividuelle

La DMD revêt une très forte hétérogénéité phénotypique (Brooke et al., 1989 ; Desguerre et al., 2009). Le suivi de l'évolution des fonctions musculaires, cardiaques, respiratoires et cognitives de 75 patients DMD pendant 10 ans a révélé 4 profils évolutifs de la DMD (Desguerre et al., 2009). Ils sont indépendants de l'anomalie génétique et peuvent être catégorisés selon la gravité de l'atteinte motrice et cognitive :

1. DMD *cognitive et motrice infantile précoce* (20%). Le développement psychomoteur est retardé (marche tardive > 18 mois) et l'atteinte intellectuelle est importante.

La perte de la marche est relativement précoce (8-9 ans) et environ 57% des patients ont un quotient intellectuel (QI) entre 50 et 70.

2. DMD *classique* (28%). L'évolution locomotrice est « moyenne » et l'atteinte cognitive est modérée. Plus précisément, la perte de la marche survient en moyenne à 9,6 ans et le statut intellectuel est inférieur aux formes « *motrice pure modérée* » et « *motrice pure sévère* ».

3. DMD *motrice pure modérée* (22%). Le pronostic moteur est bon (perte de la marche après 12 ans) et l'atteinte cognitive est absente (niveau d'éducation « normal »).

4. DMD *motrice pure sévère* (30%). Le déficit moteur est supérieur à la forme « classique » (perte de la marche à 10 ans) mais les capacités intellectuelles sont bonnes (86% des patients sont intégrés dans des établissements scolaires ordinaires).

Les manifestations cliniques évoquées dans cette partie mettent en lumière la gravité de cette pathologie et la pluralité des phénotypes existants. Dans la partie suivante, nous décrirons, de manière non exhaustive, les mécanismes et structures musculaires à l'origine de cette symptomatologie.

1.1.2 Phénotype lésionnel du muscle DMD

1.1.2.1 Absence de dystrophine

Au niveau musculaire, la dystrophine est localisée sous le sarcolemme (Bonilla et al., 1988 ; Arahata et al., 1988). Elle lie le cytosquelette de l'actine à la matrice extracellulaire (MEC) *via* un complexe de protéines sous membranaires (dystrobrevine et syntrophines) et glycoprotéines transmembranaires (sarcoglycanes, dystroglycanes, sarcospane et laminine) (figure 3). Ce complexe protéique, associé à la dystrophine, forme le *Dystrophin Associated Protein Complex* (DAPC) ou *Dystrophin Glycoprotein Complex* (DGC) (Ohlendieck et al., 1991), assurant des fonctions d'amortissement et de stabilisation du sarcolemme au cours de la contraction musculaire (Petrof et al., 1993).

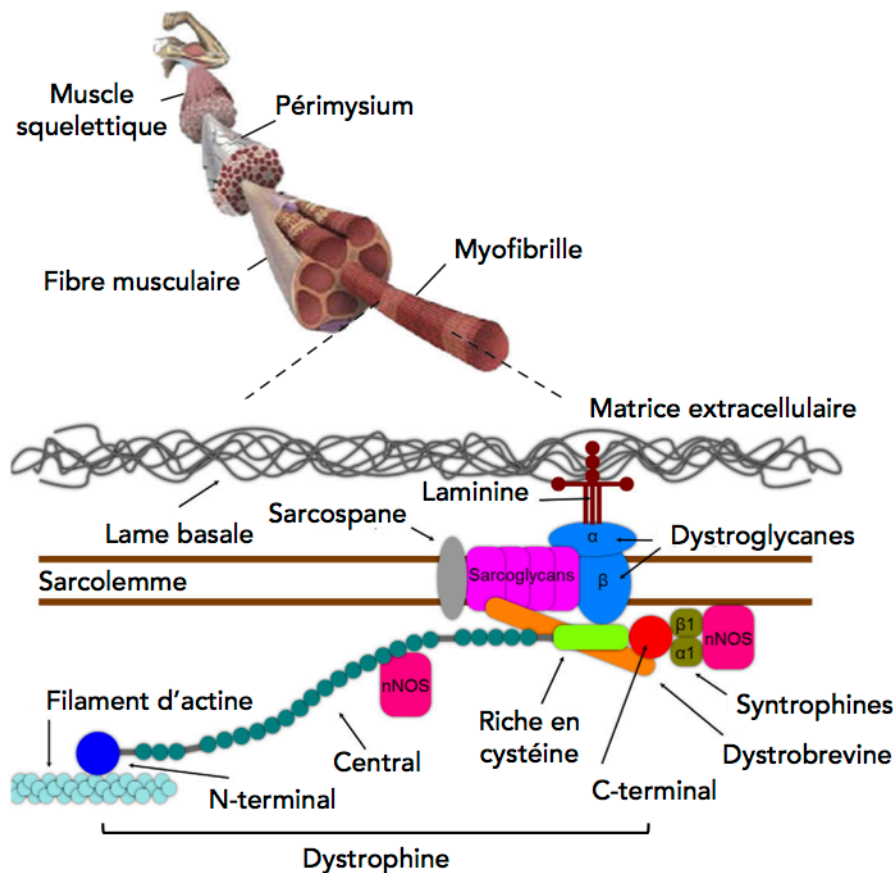


Figure 3: Schématisation longitudinale de la dystrophine et du complexe protéique associé. La Dystrophine est composée de 4 principaux domaines : N-terminal, Central, Riche en cystéine et Terminal. Cette protéine est liée directement à l'actine par son domaine N-terminal et indirectement au sarcolemme via les protéines sous membranaires (Dystrobrevine et Syntrophines) et transmembranaires (Sarcoglycannes, α et β Dystroglycannes, et Sarcospane). Ce complexe protéique contenant la dystrophine est lié à la Laminine, et par celle-ci à la Matrice extracellulaire. L'oxyde nitrique synthétase neuronale (nNOS) est également en lien avec la dystrophine. Dans le cas de la dystrophie musculaire de Duchenne, la protéine dystrophine est absente de la cellule musculaire. Figure adaptée de Ottenheijm et al., (2009) et de Douglas et Wood, (2013).

L'absence de dystrophine conduit à une fragilisation des membranes, et plus spécifiquement, à une augmentation de la sensibilité des fibres musculaires aux cycles de contraction-relâchement répétés (Ramaswamy et al., 2011) et aux contractions musculaires excentriques (Blaauw et al., 2010 ; Childers et al., 2002). La perte de l'intégrité membranaire représente le point de départ des processus « en cascade » décrits ci-dessous.

1.1.2.2 Perturbation de l'homéostasie calcique

L'homéostasie calcique, principalement dépendante de la perméabilité sarcolemmale, peut influencer de nombreuses fonctions musculaires (Berchtold et al., 2000). Des travaux

réalisés sur le modèle murin de la pathologie (i.e., souris *mdx*, *X-linked muscular dystrophy*) ont, très tôt, permis d'identifier une perturbation de l'homéostasie calcique (Duncan, 1978). L'hypothèse explicative principalement supportée dans la littérature suggère qu'en raison d'une fragilité membranaire accrue aux contractions musculaires, la membrane des fibres musculaires DMD subit d'importants traumatismes et lésions, conduisant inévitablement à une entrée massive d'ions Ca^{2+} au niveau intracellulaire (i.e., augmentation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$) (pour revue, Blake et al., 2002). Il est à noter que cette hypothèse n'a jamais été confirmée et que certains auteurs défendent l'implication de mécanismes alternatifs tels que l'activation de canaux étirement-dépendant ou « *stretch-activated channels* » (pour revue, Allen et Whitehead, 2011). Enfin, la présence chez le nouveau-né atteint de DMD de certaines myofibrilles en contraction ou « *hypercontracted fibers* » (Cros et al., 1989) sur le muscle au repos, traduit une perturbation de l'homéostasie calcique extrêmement précoce (Hudgson et al., 1967). L'augmentation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ déclenche l'activation de protéases (Turner et al., 1988), de dérivés réactifs de l'oxygène (radicaux libres) (Disatnik et al., 1998) et des calpaïnes (Alderton et Steinhardt, 2000) participant activement au processus de nécrose de la cellule (pour revue, Whitehead et al., 2006 ; Allen et Whitehead, 2010).

1.1.2.3 Nécrose cellulaire

Lorsqu'une cellule musculaire est totalement ou partiellement lésée, des cellules quiescentes nommées « cellules satellites » ont la capacité de réparer la zone atteinte ou de former une nouvelle cellule (pour revue, Järvinen et al., 2005). Ces cellules satellites, localisées à la surface des fibres musculaires (i.e., sous la lame basale), sont « stimulées » en cas de dégénérescence d'une ou de plusieurs fibre(s). En même temps que les fragments de fibres lésées sont phagocytés, les cellules satellites migrent, prolifèrent, puis fusionnent pour créer une fibre musculaire partielle ou complète (Schultz, 1989). Malgré une diminution progressive du nombre de cellules satellites avec le vieillissement (Bischoff et Heintz, 1994), celles-ci assurent inlassablement la régénération du muscle sain durant toute la vie d'un individu (Schmalbruch et Hellhammer, 1976).

Dans le cas de la DMD, le muscle contient une quantité importante de fibres musculaires nécrosées avant même l'apparition des premiers signes cliniques. Pourtant, un plus grand nombre de cellules satellites a été observé chez les patients atteints de DMD par rapport aux sujets contrôles (Kottlors et Kirschner, 2010). En outre, une forte activité de régénération est observée au début de la maladie (Bradley et al., 1972 ; Pearson et Kar, 1979).

Toutefois, ce potentiel myogénique décroît à une vitesse anormalement élevée à partir de 3 ans (Bradley et al., 1972 ; Pearson et Kar, 1979), pour être considéré comme négligeable à l'âge de 6 ans (Pearson et Kar, 1979 ; Morizumi et al., 1984). Cette atteinte précoce des capacités de régénération musculaire est principalement imputée *i)* à la diminution des télomères¹ des cellules de réserve (Sacco et al., 2010) et *ii)* au contexte environnemental intracellulaire associé à la maladie (Thomas, 2013). Ainsi, dès leur plus jeune âge, des cycles perpétuels de « nécrose – régénération » des fibres sont observables chez les patients atteints de la DMD (Gorospe et al., 1997 ; Schmalbruch, 1984). Toutefois, le couplage entre les contraintes mécaniques (e.g., contractions musculaires), chimiques (e.g., $[Ca^{2+}]_i$) et génétiques (e.g., réduction de la longueur des séquences télomères) exercées sur le muscle conduit à la nécrose d'une quantité de cellules musculaires relativement constante dans le temps (entre 0,5 % et 3,5 %, indépendamment du degré évolutif de la maladie; Bell et Conen, 1968), participant inéluctablement à l'apparition d'une atrophie musculaire sévère.

1.1.2.4 Composition du muscle atteint de la DMD

Initialement décrite comme « paraplégie hypertrophique de l'enfance de cause cérébrale » par Duchenne en 1861, celui-ci précisera l'appellation de cette pathologie 7 ans plus tard sous les termes de « paralysie musculaire pseudo-hypertrophique » (Duchenne, 1968).

L'hypertrophie représente l'augmentation du diamètre de la fibre musculaire. La pseudo-hypertrophie, quant à elle, définie comme l'accroissement du diamètre de la fibre musculaire résultant d'une augmentation de la quantité de tissu non-contractile (e.g., tissu adipeux, fibreux). À partir d'observations cliniques, Walton (1981) décrit le développement musculaire du patient DMD selon deux phases : une première phase dite hypertrophique et une seconde phase dite pseudo-hypertrophique. C'est en 1989 que Cros et collaborateurs caractérisent le contenu des fibres musculaires du *gastrocnemius medialis* (GM) et du *vastus lateralis* (VL) de patients atteints de la DMD (13 patients, âgés de 4 à 11 ans) (Cros et al., 1989). Cette équipe de recherche observe une forte proportion de tissu fibreux au sein du GM des patients atteints de la DMD (entre 18 et 38 % du volume total) tandis que celle-ci est relativement faible pour les sujets contrôles (inférieure à 8 %). Cette constatation est

¹ Les télomères représentent l'extrémité des chromosomes et sont composés de séquences répétées d'ADN. La longueur des télomères peut être considérée comme inversement proportionnelle au potentiel de division d'une cellule (Oexle et al., 1997). Une fois la « longueur minimale » atteinte, suite à des divisions successives, la cellule entre en sénescence.

également faite chez les plus jeunes patients (i.e., 4 ans), révélant une pseudohypertrophie précoce. Les résultats provenant du VL sont en faveur de ce schéma puisque les proportions en tissu fibreux et adipeux sont supérieures à celles observées sur le GM. De surcroît, une plus grande quantité de « *hypercontracted fibers* » et une activité de régénération supérieure sont également rapportées au sein du VL. Avec l'âge, la pseudohypertrophie se développe sur le GM alors qu'une atrophie apparaît sur le VL. En effet, la taille des fibres musculaire du GM est deux à trois fois supérieure chez les patients DMD (jusqu'à la fin de la première décennie). Au delà de 10 ans, la pseudohypertrophie est réduite mais le diamètre moyen des fibres musculaires du GM reste toutefois supérieur à celui des sujets contrôles. *A contrario*, le diamètre des fibres du VL décroît dès 7 ans, révélant une atrophie précoce de ce muscle. De fait, alors que certaines fibres sont épargnées, d'autres se fragmentent ou sont envahies par du tissu fibro-adipeux, conduisant à une importante hétérogénéité diamétrale des fibres musculaires : on parle alors d'anisocytose (Dubowitz, 1985).

Chez l'Homme, la fibrose est une réaction générale observée dans la plupart des tissus lésés (Mooseker et Morrow, 1991). De fait, les cycles de nécrose-régénération au sein des différents muscles provoquent une prolifération active de tissu conjonctif (collagène de type I et III, Dubowitz, 1985) entre les fibres lésées. Une fibrose endomyisale (entre les fibres musculaires) puis périmysiale (autour des fascicules musculaires) apparaît très tôt dans les différents groupes musculaires (Bell et Conen, 1968). C'est à partir de biopsies réalisées *post mortem* sur le GM de 84 patients (âgés de 13 mois à 15 ans) que Bell et Conen (1968) décrivent une augmentation précoce (i.e., avant l'âge de 4 ans) de la quantité de tissu conjonctif endomysiale chez les patients atteints de la DMD. À 14 ans, environ 50% du muscle des patients atteints de la DMD est constitué de tissu conjonctif alors que ce pourcentage ne cesse de diminuer durant la croissance des sujets contrôles (15 % après 6 ans). De manière générale, les infiltrations graisseuses et fibreuses intra- et extracellulaire constituent la presque totalité du muscle des patients âgés de plus de 10 ans (Hoffman et Gorospe, 1991).

Grâce à l'imagerie par résonance magnétique (IRM), la surface de section transversale (SST) et le degré d'atteinte des différents muscles ont pu être détaillés (e.g., eau extracellulaire et infiltrations graisseuses) (Wren et al., 2008 ; Liu et al., 1993 ; Kinali et al., 2011 ; Wokke et al., 2014) (figure 4).

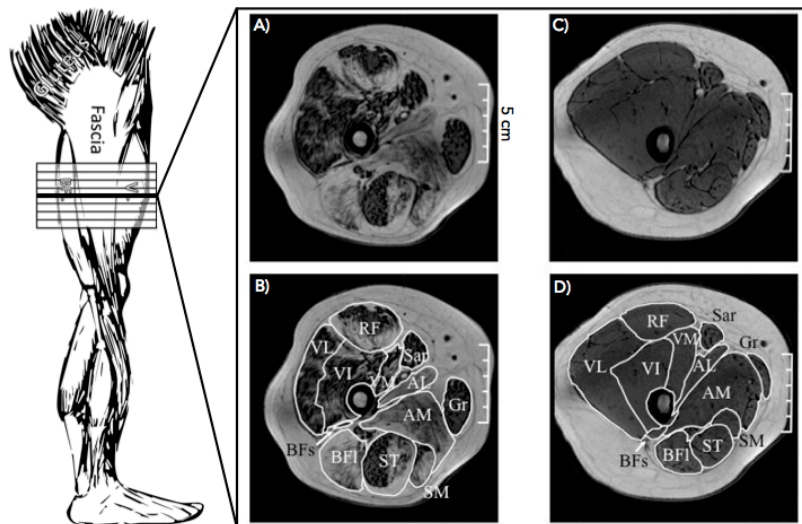


Figure 4: Coupes transversales de la cuisse obtenue par imagerie par résonance magnétique. Images du milieu de la cuisse pondérées en T₁ (temps de relaxation longitudinale) pour un patient DMD de 14 ans (A et B) et d'un sujet contrôle de 12 ans (C et D). Les structures contractiles sont identifiables par leur coloration mate. Les structures non-contractiles révèlent une coloration claire. Les différents muscles sont délimités en blanc. RF, *rectus femoris*; VL, *vastus lateralis*; VI, *vastus intermedius*; VM, *vastus medialis*; BF, *biceps femoris* courte portion; BFL, *biceps femoris* longue portion; ST, *semi-tendinosus*; SM, *semi-membranosus*; AM, *adductor magnus*; AL, *adductor longus*; Gr, *gracilis*; Sar, *sartorius*. Figure adaptée de Akima et al., (2012) et Janssen et al., (2014).

En imageant les tissus par IRM, la SST d'un membre ou muscle cible peut être calculée. Cette technique a d'ailleurs mis en exergue la diminution significative de la SST globale des *quadriceps* chez les patients atteints de la DMD ($2889 \pm 974 \text{ mm}^2$ et $4203 \pm 1203 \text{ mm}^2$, respectivement pour les patients DMD et sujets contrôles), alors que celle des ischio-jambiers n'est pas modifiée. Concernant les muscles de la jambe, cette même étude révèle que la SST du *triceps surae* augmente significativement chez les patients atteints de la DMD par rapport aux sujets sains, tandis qu'aucune différence n'est observée pour le *tibialis anterior* (TA) (Wokke et al., 2014). Toutefois, bien que cet indicateur permette de s'affranchir de l'épaisseur de graisse sous-cutanée, celui-ci ne renseigne pas sur la composition du muscle.

De nombreux travaux de recherche ont utilisé cette technique d'imagerie pour dissocier les proportions en tissu contractile et non-contractile au sein de muscles cibles (e.g., temps de relaxation longitudinale et transversale, méthode de Dixon) (Liu et al., 1993 ; Wren et al., 2008 ; Akima et al., 2012). L'intégralité de ces travaux met en évidence une atrophie musculaire sévère de la plupart des muscles ainsi qu'une augmentation importante de la quantité de tissu non-contractile chez les patients atteints de la DMD (Gaeta et al., 2012 ; Wokke et al., 2014 ; Akima et al., 2012 ; Kim et al., 2010). En effet, Akima et al., (2012)

rappellent une diminution de 37 et 36 % de la SST contractile des muscles *quadriceps* et adducteurs des patients atteints de DMD par rapport aux sujets contrôles. Aucune différence n'est observée pour les ischio-jambiers. En revanche, Wokke et al., (2014) observe une diminution significative de la SST contractile des ischio-jambiers chez les patients atteints de la DMD (1255 ± 531 et 1669 ± 59 mm², respectivement pour les patients DMD et les contrôles). Cette différence peut notamment être attribuée à la différence d'âge entre les deux populations de patients [$11,4 \pm 2,2$ ans vs. $9,8 \pm 0,4$ ans respectivement pour l'étude de Wokke et al., (2014) et Akima et al., (2012)]. À l'instar des résultats de Cros et al. (1989) obtenus par biopsies du VL, les travaux de Akima et al. (2012) rapportent une SST non-contractile moyenne des muscles de la cuisse (*quadriceps*, ischio-jambiers, et adducteurs) de 15,9% pour les patients atteints de la DMD et de 1,7 % pour les sujets contrôles. *A contrario* une hypertrophie du *triceps surae* est rapportée (i.e., SST de tissu contractile de 3454 ± 1159 mm² et 2875 ± 953 mm², respectivement pour les patients DMD et les sujets contrôles) (Wokke et al., 2014). Ce résultat diffère des constatations de Cros et al. (1989). Toutefois, ces derniers s'appuyaient sur la composition d'une unique portion de GM biopsé pour émettre leur conclusion, sans doute peu représentative de la composition globale du *triceps surae* (Raastad et al., 2010). La SST contractile du TA est quant à elle inchangée. Enfin, une augmentation de la SST non contractile est rapportée pour le *triceps surae* (26,1 % et 6,7 % de SST non contractile, respectivement pour les patients DMD et contrôles) et le TA (20,7 % et 4,2 % de SST non contractile, respectivement pour les patients DMD et contrôles). De manière générale, ces études s'accordent à dire que la composition du muscle est significativement affectée par la DMD, et que celle-ci affecte dans un premier temps les muscles proximaux des membres inférieurs. Toutefois, une hétérogénéité inter-muscles au sein du même segment a été constatée (Wren et al., 2008 ; Kim et al., 2010).

L'intégralité des études ayant comparée la quantité de tissu non contractile entre les différents muscles du membre inférieur documente une atteinte majoritaire du *gluteus* et de l'*adductor magnus* ($46,3 \pm 24,5$ % et $40 \pm 26,9$ % de SST non contractile respectivement pour le *gluteus* et l'*adductor magnus* ; Gaeta et al., 2012). À l'inverse, les muscles *gracilis* et *semi-tendinosus* sont épargnés ($2,7 \pm 4,7$ % et $12,9 \pm 20,8$ % de SST non contractile respectivement pour le *gracilis* et *semi-tendinosus*; Gaeta et al., 2012). En outre, la proportion en tissu non-contractile au sein de certains muscles se trouve être un excellent indicateur du stade de la maladie (e.g., *vastus medialis*, *rectus femoris*, *vastus lateralis*, Wren et al., 2008).

Enfin, de récentes études longitudinales ont décrit l'évolution de la composition corporelle des muscles de la jambe (Willcocks et al., 2014), de la cuisse (Hollingworth et al., 2013) et du pelvis (Hollingworth et al., 2013). À travers un suivi de 18 mois mené sur 8 patients (âgés entre 6,6 et 9,9 ans), l'équipe de Hollingworth a caractérisé la cinétique de modifications de composition corporelle de différents muscles (Hollingworth et al., 2013). Par exemple, le niveau de T₂ des muscles du *triceps surae* n'est pas significativement changé au cours des 18 mois alors qu'*a contrario* le signal du *vastus lateralis*, de la longue portion du *biceps femoris* et du *gluteus maximus* est significativement augmenté au cours des 18 mois (Hollingworth et al., 2013). Ces résultats suggèrent qu'à cette période d'âge les infiltrations sont essentiellement localisées au niveau des muscles de la hanche et de la cuisse, corroborant ainsi l'évolution proximo-distale de la maladie (pour revue, Emery, 2002).

1.1.2.5 Typologie

Une prédominance des fibres de type I au sein du muscle DMD est classiquement observée (Dubowitz et Booke, 1973). Plus précisément, l'avancée de la maladie oriente la typologie musculaire en faveur des fibres de type I alors que les fibres de type IIb disparaissent après l'âge de 5 ans (Nonaka et al., 1981 ; Webster et al., 1988). L'origine de cette réorientation progressive de la typologie des fibres musculaires est encore inconnue. Toutefois, la fragilité accrue des fibres de type II aux contractions musculaires excentriques (type IIb en particulier, Friden et Lieber, 1992) suggère une atteinte préférentielle de celles-ci.

Les modifications structurales évoquées dans cette section affectent inévitablement le fonctionnement du muscle DMD. La partie suivante décrit le phénotype fonctionnel du muscle DMD en s'appuyant sur des travaux réalisés *in vivo* sur des patients atteints de la DMD (capacité de production de force et raideur musculo-tendineuse) et *in vitro* sur des modèles animaux de la maladie (propriétés électriques, chimiques et mécaniques).

1.1.3 Phénotype fonctionnel du muscle DMD

1.1.3.1 Capacité de production de force

La faiblesse musculaire des patients atteints de la DMD fût très rapidement considérée comme le symptôme caractéristique de la maladie (Duchenne, 1867). Deux évaluations principales (évaluation semi-quantitative vs. quantitative) permettent d'appréhender cette altération et de suivre son évolution au cours de la maladie (Brooke et al., 1989).

L'évaluation semi-quantitative de la force par testing musculaire manuel (TMM²) est la méthode la plus utilisée en milieu clinique (Hogrel et al., 2006). À partir de celle-ci, McDonald et al. (1995) rapportent une diminution linéaire du score obtenu au TMM avec l'âge du patient ($n=70$), avec un point d'inflexion à 13 ans. Plus précisément, cette équipe de recherche décrit une première phase entre 5 et 13 ans où un déclin rapide des capacités de production de force est observé (-0,25 unités TMM/an), puis une seconde durant l'adolescence, où celles-ci diminuent plus lentement (-0,06 unités TMM/an). Cependant, l'allure de cette relation s'avère particulièrement dépendante de l'articulation considérée. En effet, comme initialement décrit par Duchenne (1868), la faiblesse musculaire débute au niveau des membres inférieurs et affecte plus particulièrement les muscles proximaux (i.e., fléchisseurs et extenseurs de la hanche et du genou). Pour illustration, avant 13 ans, la diminution annuelle du score au TMM est respectivement de -0,36 et -0,48 pour les extenseurs de la hanche et du genou tandis qu'elle est de -0,22 et -0,17 pour les fléchisseurs plantaires et du poignet. Au delà de cet âge, le score au TMM est presque constant pour les articulations proximales (respectivement -0,03 et -0,01 unités pour les extenseurs du genou et de la hanche) alors qu'il continue de décroître pour les articulations distales (respectivement -0,13 et -0,08 unités pour les fléchisseurs plantaires et du poignet).

Les résultats obtenus à partir d'évaluations quantitatives corroborent relativement bien ce schéma. Les études ayant caractérisées quantitativement la capacité de production de force maximale (volontaire isométrique, volontaire isocinétique, volontaire spécifique et involontaire) sont répertoriées dans le tableau 1. De manière générale, les patients atteints de la DMD ($10,8 \pm 3,2$ ans) produisent $\approx 27 \pm 12,9$ % de la force maximale volontaire isométrique (FMVI) des sujets contrôles. La faiblesse musculaire apparaît dans un premier temps au niveau des muscles croisant l'articulation de la hanche (ou coxo-fémorale) et du genou, représentant respectivement $\approx 30,1$ % et $\approx 29,7$ % de la force maximale développée par les sujets contrôles (e.g., Stuberg et Metcalf, 1988 ; Wokke et al., 2014 ; Lerario et al., 2012). Effectivement les muscles distaux sont légèrement moins affectés puisque la force maximale isométrique développée par les fléchisseurs plantaires et dorsaux des patients représente respectivement ≈ 40 % et ≈ 46 % de la force maximale développée par les sujets contrôles (Wokke et al., 2014).

² Méthode d'évaluation semi-quantitative de la force maximale volontaire de patients. Elle peut être réalisée sur toutes les articulations et vise à coter sur une échelle ordinale le niveau de force développé par le patient. La somme des notes obtenues sur chacune des articulations constitue le score du patient.

Tableau 1 : Capacité de production de force maximale (volontaire isométrique, volontaire isocinétique, volontaire spécifique et involontaire) des patients atteints de la DMD.

Force	Référence	Articulation (mouvement)	Âge des patients	Force (% contrôles)		
Maximale isométrique volontaire	Wokke et al. (2014)	Genou (extension)	11,4 ± 2,2	21,9		
		Genou (flexion)		35,1		
		Cheville (FD)		40,0		
		Cheville (FP)		46,7		
	Lerario et al. (2012)	Genou (extension)	8,4 ± 1,6	18,1		
		Genou (flexion)		40,0		
		Coude (extension)		25,7		
		Coude (flexion)		21,2		
	Akima et al. (2012)	Genou (extension)	9,8 ± 0,4	31,5		
	Stuberg et Metcalf, (1988) ³	Genou (extension)	11,3 ± NR	15,9		
		Hanche (flexion)		30,1		
		Epaule (abduction)		22,0		
	Cornu et al. (2001)	Coude (flexion)	13,5 ± 3,0	17,0		
		Coude (flexion)		15,2		
	Servais et al. (2013)	Poignet (flexion)	16,8 ± 4,4	9,8		
Poignet (extension)		12,1				
Grip (flexion des doigts)		9,8				
Pinch (adduction du pouce)		19,3				
Scott et al. (1986)	Cheville (FD)	7,8 ± NR	21,2			
McDonald et al. (1995) ⁴	Genou (extension)	≈6	≈12	≈50	≈0	
	Genou (flexion)			≈31	≈25	
	Coude (extension)			≈31	≈12	
	Coude (flexion)			≈33	≈28	
	Grip (flexion des doigts)			≈51	≈35	
	Pinch (adduction du pouce)			≈44	≈42	
Maximale isocinétique volontaire	Lerario et al. (2012)	Genou (extension)	8,4 ± 1,6	21,4		
		Genou (flexion)		38,7		
	Merlini et al. (1992) ⁵	Genou (extension)	7,0	17,0		
		Genou (flexion)		30,0		
	McDonald et al. (1995)	Genou (extension)	≈6	≈12	≈23	≈1
		Genou (flexion)			≈40	≈18

³ 7 sujets contrôles pour l'extension du genou et 3 pour l'extension de la hanche.

⁴ Suivi longitudinal de six ans.

⁵ Étude de cas.

Spécifique (FMVI/SST contractile)	Wokke et al. (2014)	Genou (extension)		58,2
		Genou (flexion)		50,0
		Cheville (FD)	11,4 ± 2,2	43,1
		Cheville (FP)		39,6
	Akima et al. (2012)	Genou (extension)	9,8 ± 0,4	50,0
Involontaire (stimulation électrique musculaire)	McComas et al. (1971)	<i>extensor hallucis brevis</i>	11,3 ± NR	≈50
	Scott et al. (1986)	<i>tibialis anterior</i>	7,8 ± NR	26,7

FD : flexion dorsale, FP : flexion plantaire, NR : non référencé, FMVI : force maximale volontaire isométrique, SST contractile : surface de section transversale du tissu contractile (déterminée par IRM).

Il est important de noter que l'atteinte est hétérogène entre les différents groupes musculaires d'une même articulation. À l'instar des modifications de composition musculaire (e.g., Akima et al., 2012), les capacités de production de force des fléchisseurs du genou sont relativement épargnées (37,5 % de la FMVI des sujets contrôles) tandis que les extenseurs sont particulièrement affaiblis par la maladie (21,8 % de la FMVI des sujets contrôles) (e.g., Stuberg et Metcalf, 1988 ; Lerario et al., 2012). Les différents travaux menés sur les membres supérieurs soulignent l'atteinte tardive de ces groupes musculaires (e.g., Cornu et al., 2001 ; Servais et al., 2013 ; McDonald et al., 1995). Par exemple, le suivi longitudinal conduit par McDonald et al. (1995) rapporte une relative préservation des muscles croisant l'articulation du coude et de la main de patients atteints de la DMD âgés de 6 ans (*cf.* tableau 1). En revanche, la faiblesse musculaire est particulièrement prononcée au-delà de 12 ans (e.g., 9 % de la FMVI de flexion des doigts des sujets contrôles ; Servais et al., 2013).

Pour s'affranchir de l'atrophie musculaire induite par la DMD, deux récentes études ont quantifié la qualité du tissu musculaire (ou « *muscle quality* ») des patients atteints de DMD (Akima et al., 2012 ; Wokke et al., 2014). Pour ce faire, ces équipes de recherche ont normalisé le couple maximal produit (N.m) par la SST des muscles agonistes (cm²). Le calcul de la force musculaire spécifique (N.m/cm²) a mis en lumière une réduction de ≈ 50 % de la « qualité » des muscles fléchisseurs et extenseurs du genou et de la cheville des patients atteints de la DMD (*cf.* tableau 1). Bien que cette méthode permette de s'affranchir de

l'atrophie musculaire, la mesure reste toutefois influencée par le niveau d'investissement du patient et sa capacité à atteindre un niveau d'activation maximale (Piotrkiewicz et al., 1993).

À notre connaissance, seulement deux études se sont intéressées à quantifier la force maximale involontaire de patients atteints de la DMD (Scott et al., 1986 ; McComas et al., 1971). Ainsi, la production de force involontaire de l'*extensor hallucis brevis* et du *tibialis anterior* de patients atteints de la DMD représente, respectivement, $\approx 50 \%$ et $\approx 26,7 \%$ de celle des sujets contrôles. Evidemment, cette altération est principalement imputée à la diminution du volume et du nombre d'unités motrices actives (\approx divisé par 4 ; McComas et al., 1971, 1977). Toutefois, certains auteurs suggèrent l'implication de mécanismes concomitants, contribuant à l'altération de la capacité de production de force du muscle DMD (e.g., processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans la contraction musculaire, Watchko et al., 2002 ; Claflin et Brooks, 2008).

1.1.3.2 Raideur musculo-tendineuse

Dès l'enfance, des rétractions musculo-tendineuses et des diminutions de l'amplitude maximale d'articulations (i.e., souplesse) telles que la cheville ou la hanche sont observées chez les patients DMD (McDonald et al., 1995). Parmi d'autres, ces observations cliniques ont très tôt laissé penser que l'augmentation de raideur musculaire était un symptôme caractéristique de la DMD, contribuant significativement à l'immobilisation des articulations (Hakim et al., 2011). Pour vérifier cette hypothèse, Berquin et al. (1994) ont établi la relation entre la force passive et longueur musculaire de l'*extensor digitorum longus* et du *soleus* de souris contrôles et de souris *mdx*. Une augmentation moyenne de 166 % de la tension passive chez la souris *mdx* a été rapportée dans cette étude. Ce n'est que quelques années plus tard que Cornu et al. (1998, 2001) caractérisent la raideur musculo-articulaire et musculo-tendineuse des extenseurs du genou (Cornu et al., 1998) et des fléchisseurs du coude (Cornu et al., 2001) de patients atteints de la DMD. Brièvement, la première méthode utilisée, nommée « perturbations sinusoïdales » (Rack, 1966) permet d'apprécier la raideur musculo-articulaire par application de perturbations mécaniques sinusoïdales ou aléatoires (au niveau d'une articulation) pendant une contraction musculaire isométrique. Imposées à différents niveaux de couple et fréquences (de 1 à 20 Hz, Hunter et Kearney, 1982), ces perturbations permettent de calculer le rapport entre les variations d'angles et les variations de couple (en tenant compte du retard de phase entre ces deux variables), renseignant ainsi sur les propriétés élastiques et visqueuses du complexe musculo-articulaire. La seconde méthode appelée

détente rapide ou « *quick release* », renseigne sur la raideur musculo-tendineuse (Goubel et Pertuzon, 1973). Elle consiste à libérer brutalement un muscle au cours d'une contraction isométrique et à observer les premières variations de longueurs (Goubel et Linsel-Corbeil, 2003). Celles-ci peuvent être attribuées au relâchement des composantes élastiques du complexe muscle-tendon préalablement mis en tension durant la contraction isométrique. Cette procédure, répétée à différents niveaux de couple, permet de construire la relation tension-extension du système musculo-tendineux. Toutes deux appliquées aux fléchisseurs du coude (Cornu et al., 2001), ces méthodes ont permis de mettre en évidence une augmentation considérable de la raideur (musculoarticulaire et tendineuse) de patients atteints de la DMD. Plus précisément, l'index de raideur musculo-articulaire (i.e., pente de la relation entre la raideur et le couple de force) des sujets contrôles était considérablement plus faible ($2,26 \pm 0,70 \text{ rad}^{-1}$) que celui développé par des patients atteints de DMD à un stade « précoce » ($4,96 \pm 2,21 \text{ rad}^{-1}$) et à un stade « avancé » de la maladie ($65,81 \pm 76,98 \text{ rad}^{-1}$). Ce constat révèle très nettement l'étroite relation entre la raideur « musculo-tendino-articulaire » et le stade de la maladie (Cornu et al., 1998, 2001). Les auteurs attribuent principalement cette augmentation de raideur aux perturbations de l'homéostasie calcique (Blake et al., 2002), aux infiltrations collagéniques (Bell et Conen 1968) et à la typologie musculaire majoritairement lente (Nonaka et al., 1981), progressivement observées durant la maladie. À notre connaissance, seulement deux études ont évalué l'efficacité d'une thérapeutique visant à réduire la raideur musculaire de patients atteints de la DMD (Louis et al., 2003) et de souris *mdx* (Hakim et al., 2013). En effet, Louis et al., (2003) montrent qu'une supplémentation en créatine permet d'améliorer les capacités de production de force et de diminuer la raideur musculaire mesurée par *quick release*. De même, Hakim et al. (2013) démontrent que l'injection d'un micro- et mini- gène, *via* un virus adéno-associé, permet au souris *mdx* de retrouver une raideur musculaire identique à celle des souris contrôles.

Enfin, un travail réalisé *in vivo* par Rizzuto et al. (2009), révèle une augmentation de la raideur des tendons de l'*extensor digitorum longus* et du *tibialis anterior* des souris *mdx*. Cette étude rapporte parallèlement une augmentation de l'énergie dissipée (viscosité) par le tendon des souris *mdx* (Rizzuto et al., 2009). Cela signifie que les tendons des souris *mdx* sont moins efficaces pour transmettre la force produite par le muscle.

De nombreuses études considèrent qu'une augmentation de la raideur du système musculo-tendineux atteste d'une amélioration des capacités du système à transmettre la force (e.g., Kubo et al., 2001 ; Spurr et al., 2003 ; Kubo et al., 2006 ; Burgess et al., 2007). En

considérant les résultats de ces deux études et ceux présentés dans cette section, il est semble probable que la transmission de force au sein du muscle DMD soit améliorée.

1.1.3.3 Transmission de force

Pour développer un couple de force externe, la force musculaire créée par l'interaction entre l'actine et la myosine doit être transmise jusqu'au segment osseux *via* de nombreuses structures. Toutefois, le fonctionnement et le rôle de chacune d'elle n'est pas complètement établi (Patel et Lieber, 1997 ; Huijing, 1999). Cette section vise à décrire les principales structures impliquées dans la transmission de force intramusculaire afin d'identifier les mécanismes à l'origine de l'altération de la transmission de force révélée chez la souris *mdx* (Claflin et Brooks, 2008 ; Ramaswamy et al., 2011).

Deux grands modes de transmission de force coexistent au sein du muscle : une longitudinale et une latérale (Street, 1983). Plus récemment, Ramaswamy et al. (2011) démontrent qu'au delà de certains biais expérimentaux la force développée longitudinalement par un muscle électriquement stimulé est presque équivalente à la force développée latéralement. Globalement, la transmission de force intramusculaire est rapide [$\approx 30 \text{ m.s}^{-1}$ (Morimoto et Takemori, 2007)] et s'effectue *via* trois principales structures : les ponts actine-myosine, la titine et le costamère⁶ (Patel et Lieber, 1997) (figure 5A). Lorsque les sarcomères se raccourcissent, la force créée est transmise longitudinalement jusqu'à la jonction myotendineuse *via* les ponts actine-myosine et la titine. De manière concomitante, la force est également transmise latéralement au sarcolemme puis à la matrice extracellulaire (et plus globalement aux aponévroses) par le costamère (Patel et Lieber, 1997). En représentant de façon simpliste une portion de muscle DMD (figure 5B), il paraît évident que la transmission de force intramusculaire ne peut suivre le même schéma. Compte tenu des foyers de nécrose observés au sein des fibres DMD, la transmission de force ne peut se faire longitudinalement par les ponts actine-myosine et la titine (Claflin et Brooks, 2008). De même, lorsque certaines zones ne sont plus fonctionnelles (conséquence des fibres « hypercontractées » ou « *contractures clots* » ; Claflin et Brooks, 2008), la transmission de force longitudinale au niveau des sarcomères non fonctionnels est dépendante des propriétés de la titine (Claflin et Brooks, 2008).

⁶ Structure sous-membranaire composée de deux principaux complexes protéique : le *dystrophine* glycoprotéines complexe et le *integrine-vinculine-taline* complexe. Ses deux principales fonctions sont de transmettre la force entre le sarcomère et le sarcolemme, et d'assurer l'intégrité du sarcolemme au cours de la contraction musculaire (Patel et Lieber, 1997).

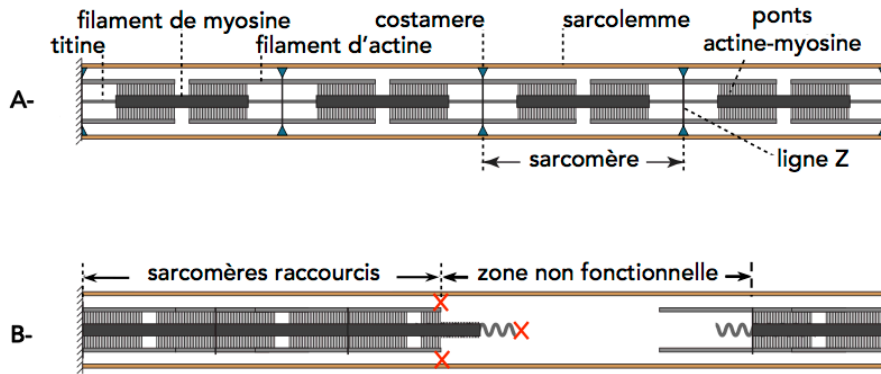


Figure 5: Schématisation des structures impliquées dans la transmission de force longitudinale et latérale intramusculaire. A- Composition d'une fibre musculaire contrôlée. Lorsque les sarcomères se raccourcissent, la force créée est transmise longitudinalement via les ponts actine-myosine et la titine, et latéralement au sarcolemme puis à la matrice extracellulaire par le costamère. B- Composition d'une fibre musculaire DMD. Compte tenu, à la fois des zones non fonctionnelles et de l'altération fonctionnelle des costamères, la transmission de force longitudinale et latérale est réduite (zones « problématiques » spécifiées par des croix rouges). Figure adaptée de Claflin et Brooks, (2008).

Or, de nombreux travaux documentent une altération fonctionnelle de la titine chez la souris *mdx* (Gailly et al., 2007 ; Spencer et Mellgren, 2002). Pour résumer, dans ce dernier cas de figure (i.e., sarcomères non fonctionnels) la transmission longitudinale de la force est significativement altérée (Claflin et Brooks, 2008), par conséquent, la transmission latérale des forces vers la matrice extracellulaire *via* les costamères est l'unique alternative restante (Bloch et Gonzalez-Serratos, 2003). Cependant, en l'absence de dystrophine les costamères sont désorganisés (Porter al., 1992 ; Straub et al., 1992) et leurs capacités fonctionnelles altérées (Spencer et Mellgren, 2002). La capacité du muscle à transmettre la force latéralement semble donc nettement compromise. Pour tester cette hypothèse, Ramaswamy et al. (2011) ont mesuré *in vitro* le niveau de force transmis longitudinalement et latéralement chez des souris contrôles et *mdx*. Cette étude montre que la transmission de force latérale est fortement réduite chez les souris *mdx* ($\approx 31\%$). En effet, si la force transversale représente $\approx 80\%$ de la force longitudinale développée par la souris contrôle, celui-ci ne représente que $\approx 50\%$ chez la souris *mdx*. Enfin, à partir d'une même comparaison effectuée chez deux populations de rats d'âges différents (i.e., 6 mois vs. 35-36 mois), les auteurs corroborent la forte implication de la dystrophine et du *dystrophin glycoprotein complex* dans la transmission de force latérale.

1.1.3.4 *Transmission synaptique*

La *dystrophine* est nécessaire aux activités de maintenance et de remodelage des synapses neuromusculaires (Marques et al., 2007 ; Banks et al., 2009). Les muscles DMD présentent donc des anomalies structurales au niveau des jonctions neuromusculaires (Fukudome et al., 2000 ; Banks et al., 2009), ainsi qu'une diminution de l'amplitude des potentiels miniatures de plaques motrices (i.e., potentiel post synaptique excitateur ; Nagel et al., 1990). Même si à ce jour aucune étude n'a quantifié l'efficacité de la transmission synaptique chez l'homme atteint de DMD, plusieurs études réalisées sur la souris *mdx* révèlent paradoxalement une excitabilité et des potentiels membranaires de repos similaires à la souris contrôle (Turner et al., 1988 ; Hollingworth et al., 1990 ; De Luca et al., 1997 ; Woods et al., 2004). Des études complémentaires sont nécessaires pour éclaircir ces résultats équivoques (Allard, 2006 ; Call et al., 2013).

1.1.3.5 *Couplage excitation-contraction*

En condition d'étude *in vitro*, une diminution de la quantité de Ca^{2+} libérée par le réticulum sarcoplasmique en réponse à un potentiel d'action, provoque généralement une réduction de la force produite (Godt, 1974 ; Fink et al., 1990). Afin de mieux comprendre l'origine de la faiblesse des fibres musculaires DMD (Wood et al., 1978 ; Coirault et al., 1999), Woods et al. (2004) ont mesuré la quantité de calcium libérée par le réticulum sarcoplasmique dans le cytoplasme de la fibre DMD en réponse à un potentiel d'action musculaire. Ces auteurs rapportent une diminution significative de la quantité maximale de calcium libérée (50%) sans altération du délai nécessaire à sa libération. Ces résultats seront confirmés (diminution de 67% du calcium libéré) et approfondis l'année suivante, puisque l'équipe de Woods révèle en 2005, qu'indépendamment de l'intensité de dépolarisation, le réticulum sarcoplasmique de la fibre musculaire DMD possède une incapacité intrinsèque à libérer une quantité de calcium maximale dans le cytoplasme (Woods et al., 2005). En modélisant le fonctionnement de ces mécanismes, Woods et al. (2005) rapportent une préservation de la cinétique de libération du calcium ($\approx 4,5$ ms ; Woods et al., 2005).

Cette partie fait état du phénotype fonctionnel observé chez des patients et modèles de la DMD. Les études réalisées *in vitro* indiquent que la transmission synaptique est préservée, tandis que le couplage excitation-contraction et les propriétés mécaniques (i.e., raideur musculaire, transmission de force longitudinale et transversale) sont significativement altérés. Toutefois, ces propriétés n'ont actuellement pas été évaluées chez des patients. Les

principales altérations fonctionnelles rapportées chez des patients atteints de la DMD sont une diminution considérable des capacités de production de force absolue et spécifique, et une augmentation de la raideur musculo-tendino-articulaire. Concernant cette dernière propriété, la durée du protocole, la nécessité de réaliser plusieurs contractions maximales et sous maximales, et l'utilisation d'un ergomètre par articulation, rendent difficile sa démocratisation en clinique auprès des patients DMD. Pourtant, puisque la capacité de production de force et la raideur musculaire participent conjointement à l'immobilisation des articulations et à la perte d'autonomie observée chez les patients, l'évaluation concomitante de celles-ci revêt un intérêt clinique incontestable.

1.1.4 Evaluation en routine clinique de l'atteinte fonctionnelle induite par la DMD

Préalablement à la description des méthodes utilisées pour quantifier l'atteinte fonctionnelle des patients, il convient de rappeler et définir les principales caractéristiques métrologiques d'une méthode d'évaluation ou d'un outil de mesure.

Justesse (ou validité) : « caractérise l'aptitude à donner des indications égales à la valeur de la grandeur mesurée » (norme ISO 5725-2).

Fidélité : « indice de la dispersion de cette mesure lors d'une série d'indications correspondant à une même valeur de la grandeur mesurée. On distingue ici la répétabilité et la reproductibilité » (norme ISO 5725-2).

Répétabilité : « condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps » (vocabulaire international de métrologie).

Reproductibilité : « condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et système de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires » (vocabulaire international de métrologie).

Sensibilité : « quotient de la variation d'une indication d'un système de mesure par la variation correspondante de la valeur de la grandeur mesurée » (vocabulaire international de métrologie).

1.1.4.1 Les scores fonctionnels

Cette évaluation est la plus « simple » et la moins coûteuse. Elle est aussi très répandue en clinique pour évaluer la sévérité de la maladie. Elle est basée sur l'utilisation

d'échelles ordinales et permet une description simple et imagée des capacités fonctionnelles du patient. Les plus utilisées dans le milieu clinique sont l'échelle « *Brooke upper extremity scale* » permettant d'investiguer les membres supérieurs (Brooke et al., 1981), et l'échelle « *Vignos functional rating scale* » décrivant la motricité des membres inférieurs (Vignos et al., 1963). Pour illustration, l'échelle de Vignos et al., (1963), décliné en 10 stades, discrimine notamment les patients de la manière suivante :

- ◆ Stade 1 « *marche et monte les marches sans assistance* »
- ◆ Stade 5 « *marche sans aide mais ne peut pas monter sur une chaise ou gravir des marches* »
- ◆ Stade 10 « *est immobilisé dans son lit* »

La reproductibilité intra- et inter- opérateurs de ces échelles est très bonne (ICC > 0.83, Florence et al., 1984). Les relations linéaires observées entre les scores obtenus et l'âge des patients atteints de la DMD ($R^2_{\text{Brooke}}=0,435$ et $R^2_{\text{Vignos}}=0,558$; Jung et al., 2012) soulignent leur intérêt pour décrire une population d'étude. Toutefois certaines limites peuvent être énoncées. La première limite est que ces échelles sont semi-quantitatives, c'est à dire qu'elles ne permettent pas d'attester précisément (en donnant un %) de l'amélioration ou de la détérioration des capacités motrices du patient. La seconde est que l'on constate souvent un effet « plancher » ou « plafond », traduisant un certain manque de sensibilité des échelles (i.e., discrimination inter-indivuelle presque impossible par l'intermédiaire du test). En effet, la plupart des patients entre 3 et 6 ans sont répertoriés dans le stade 1 (Jung et al., 2012). À l'inverse, la majorité des patients de 10 et 15 ans sont associés au stade 9 (Jung et al., 2012). Pourtant, leur puissance musculaire et/ou leur souplesse sont différentes (Jung et al., 2012) : on parle alors d'effet « plancher » (niveaux de force trop faibles pour être discriminés) ou « plafond » (niveaux de force trop élevés pour être discriminés) du test.

1.1.4.2 Les tests chronométrés

Les premiers tests chronométrés développés étaient centrés autour de six tâches standardisées (manœuvre de Gowers, monter 4 marches les bras pendants, parcourir une distance de 10 m, se lever d'une chaise, enfiler un T-shirt et découper un carré dans une feuille de papier) (Brooke et al., 1981). D'autres tests chronométrés, tels que le 6 minutes de marche (« *6-minute walk test* », 6MWT) ou 12 minutes de marche (« *12-minute walk test* », 12MWT) ont été développés. Le 6MWT est actuellement le plus utilisé dans le milieu clinique. Il vise à quantifier la distance maximale que peut parcourir un patient en 6 minutes.

Le patient doit réaliser cette distance entre deux points espacés d'au moins 25 mètres, sans aide extérieur, ni encouragement (ATS, 2002). Ce test permet d'investiguer à la fois les fonctions motrices et énergétiques (i.e., endurance) du patient, informant sensiblement sur le stade de la pathologie (McDonald et al., 2013). En outre, sa répétabilité est excellente (McDonald et al., 2013) et il permet de s'affranchir de l'effet « plafond » mentionné précédemment. L'inconvénient de ce test est qu'il s'adresse uniquement aux patients ambulants, limitant son utilisation à la première moitié de la vie du patient atteint de la DMD. Il s'avère également difficile de maintenir l'état de motivation des patients durant toute la durée du test (Brooke et al., 1983). Enfin, l'utilisation du 6MWT sur des empan temporels long (i.e., suivi clinique) peut nécessiter une caractérisation conjointe de la masse adipeuse, celle-ci influençant nettement la performance patient, et ce indépendamment de ses capacités musculaires.

1.1.4.3 Les échelles de mesure de la fonction motrice

Ces échelles sont basées sur une série d'exercices dont la qualité de la réalisation est évaluée (allant d'une échelle binaire à une échelle de mesure à 4 niveaux). Elles fournissent une mesure semi-quantitative de la fonction motrice (i.e., attribution d'un score final). Parmi celles-ci on trouve la « *Hammersmith Motor Ability Score* » (HMAS, Scott et al., 1982) qui évalue les capacités locomotrices des patients ambulants par l'intermédiaire de 34 items. Toutefois peu d'études ont caractérisé sa fidélité (Smith et al., 1991) et son effet « plafond » est particulièrement critiqué (Mazzone et al., 2009). C'est à partir de certains items provenant du HMAS qui semble être sensibles au statut fonctionnel des patients, et de nouveaux items se focalisant sur des modifications « plus fines » potentiellement induites par un traitement, que la « *North Star Ambulatory Assessment* » a été développée. La fidélité intra- et inter-opérateur de cette échelle est très bonne (ICC = 0,950 et 0,995, respectivement) (Mazzone et al., 2009). Enfin, la *Mesure de la Fonction Motrice* (MFM, Berard et al., 2006), basée sur 32 items, est une échelle permettant d'évaluer des patients ambulants et non-ambulants (e.g., « *un stylo sur la table : le patient doit attraper le stylo avec une main, le coude doit être en extension complète à la fin du mouvement* »). Les scores obtenus sont étroitement corrélés à ceux obtenus à partir de l'échelle de *Vignos* ($r = 0,91$) et de *Brooke* ($r = 0,85$), et la fidélité inter-opérateur est excellente à modérée selon les items (coefficients de Kappa allant de 0,51 à 0,94) (Mazzone et al., 2009). Si ces échelles évaluent précisément les capacités d'actions des patients et pour certaines tiennent compte des compensations, elles permettent difficilement

d'identifier l'origine de l'échec.

1.1.4.4 *Le testing musculaire manuel*

Le testing musculaire manuel (TMM) est basé sur l'utilisation de critères spécifiques décrivant la capacité de production de force d'un groupe musculaire ou bien d'une fonction motrice globale (Hogrel et al., 2009). Par l'intermédiaire de différentes échelles telles que la « *Medical Research Council Scale* » (MRC, Scott et al., 1982) (figure 6), la MRC modifiée à 11 grades (Brooke et al., 1983) ou 13/14 grades (Cohen et al., 1982; Tawil et al., 1994), le TMM vise à apprécier la force développée par un patient face à une contrainte appliquée par l'expérimentateur.

Grade	Résistance produite
5	Force développée normale pour l'âge
4	Mouvement possible contre la gravité et contre résistance
3	Mouvement possible contre la pesanteur
2	Mouvement possible si la gravité est éliminée
1	Tremblement ou trace de contraction musculaire
0	Pas de contraction musculaire visible

Figure 6: Échelle Medical Research Council de testing manuel. Cette échelle ordinale permet d'apprécier les capacités de production de force d'un groupe musculaire. D'après Hogrel et al., (2006).

Bien entendu, la répartition en 11 sous grades ou plus de la MRC permet d'améliorer la sensibilité du TMM. Toutefois, celle-ci peut aussi être à l'origine de grandes fluctuations inter-opérateur (Florence et al., 1994 ; Hogrel et al., 2006). Indépendamment de l'échelle utilisée, un grand nombre de groupes musculaires peut être testé. Compte tenu de sa fidélité intra- et inter-opérateurs, le TMM est actuellement utilisé pour suivre l'évolution de la maladie (Florence et al., 1984) et quantifier les effets de différents traitements administrés aux patients DMD (Manzur et al., 2008).

Bien que cette méthode soit appropriée au suivi clinique (rapide, sans appareillage, répétable et sensible), elle est semi-quantitative, limitant nettement les analyses statistiques. Il est aussi à noter que la coopération peut être parfois difficile à obtenir chez les jeunes patients, i.e., 3-4 ans (Brooke et al., 1983). Par ailleurs, l'effet « plafond » du TMM est également une limite non négligeable. En effet, à partir du grade 4, il devient difficile de distinguer les différences, laissant place à une évaluation assez subjective.

1.1.4.5 *Le testing musculaire quantifié*

Pour contrecarrer la subjectivité inhérente au TMM, l'utilisation d'outils permettant de quantifier la force musculaire s'est considérablement développée (Edwards, 1991). La caractérisation des forces maximales isométriques volontaires (FMIV) développées par des groupes musculaires peut se faire au moyen de capteurs de force, de dynamomètres manuels ou d'ergomètres isocinétiques. Le résultat obtenu est exprimé en N ou N.m si le bras de levier segmentaire a été déterminé. L'opérateur doit placer le patient dans une position standardisée et s'assurer que celle-ci sera maintenue au cours de la FMIV. L'utilisation de sangles permet d'éviter de possibles compensations avec les autres parties du corps. Le patient peut ensuite exécuter une FMIV. Les trois principales méthodes de Testing Musculaire Quantifié (TMQ) sont décrites ci-dessous.

La première, sans doute la plus répandue, est constituée de petits matériels transportables, tels que le « *grip* » visant à caractériser la force de préhension (Wagner et al., 1989), le « *pinch* » évaluant la pince pouce-index, et les « *hand-held dynamometers* » autrement dit « dynamomètres manuels » pouvant être utilisés sur divers segments (Backman et Henriksson, 1995) (figure 7). La fidélité des deux méthodes d'évaluation de la capacité de production de force des muscles fléchisseurs du poignet et des doigts (i.e., *grip* et *pinch*) est bonne (CCI > 0,88 ; Servais et al., 2013). Toutefois, l'atteinte tardive de ces muscles (Emery, 2002), limitent souvent l'utilisation du « *grip* » et du « *pinch* » aux patients DMD âgés de plus de 10 ans (Mattar et Sobreira, 2008). Concernant les mesures effectuées *via* des dynamomètres manuels, la fidélité est mauvaise (coefficient de variation inter-opérateur entre 70 à 81% ; Roebroek et al., 1998). Ces auteurs rapportent que l'utilisation de ces outils nécessite une attention méthodologique particulière. Tout d'abord la distance entre le centre de l'articulation mobilisée et la position du dynamomètre (i.e., bras de levier) doit être mesurée précisément pour calculer le couple de force. Aussi, une attention toute particulière doit être portée à la contrainte exercée par la pesanteur durant le test. Sous l'effet de la pesanteur, une modification du poids du segment peut considérablement modifier la force mesurée au niveau du capteur de force. Enfin, la douleur ressentie au niveau du point d'appui du dynamomètre pendant la contraction, conduit à une sous-estimation/modification de la capacité de production de force des patients (Kilmer et al., 1997).



Figure 7: Évaluation de la fonction musculaire par dynamométrie manuelle. Le dynamomètre est maintenu manuellement par l'expérimentateur contre le tibia du patient afin de mesurer la force développée par les extenseurs du genou. D'après Maffiuletti et al. (2010a).

La seconde consiste à utiliser des sangles pour relier le patient au capteur de force, placé à distance de celui-ci (Aitkens et al., 1989 ; Escolar et al., 2001, 2005). Cette approche est nommée « *Quantified Muscle Testing* » dans la littérature scientifique (Hogrel et al., 2006). Elle est reconnue comme sensible, fiable, et reproductible, à condition d'une standardisation précise de la position du patient et des sangles (Aitkens et al., 1989 ; Escolar et al., 2001 ; Mayhew et al., 2007). De plus, la mise en place d'un feedback visuel peut permettre d'accroître la motivation du patient (Hogrel et al., 2006). Cette méthode permet d'outrepasser certaines limites liées à l'utilisation des dynamomètres manuels, toutefois, elle ne permet pas de s'affranchir de la mesure du bras de levier, ni de l'effet de la pesanteur (Hogrel et al., 2006).

La troisième méthode, nettement plus couteuse permet de s'affranchir de toutes ces limites. En effet, elle est basée sur l'utilisation d'un ergomètre isocinétique permettant de mesurer le couple maximale volontaire développé au niveau d'une articulation en condition isométrique ou dynamique. Le positionnement standardisé et le calcul automatique du couple permet d'obtenir une très grande reproductibilité, sensibilité et fiabilité (Delitto, 1990 ; Florence et Schierbecker, 1989). Un mode isocinétique actif assisté⁷ permet d'évaluer les capacités de production de force sur une plage angulaire, en s'affranchissant des limites relatives à la pesanteur et aux forces passives développées par les muscles antagonistes

⁷ L'accessoire et le segment corporel sont mobilisés à une vitesse angulaire prédéterminée. La force à appliquer au système est indépendante du poids du segment et de la partie mobile de l'ergomètre

(rétractions tendineuses). Toute force supérieure à 0,7 N.m produite par le patient au cours du mouvement est donc détectable (Hogrel et al., 2006). Ce mode a donc démocratisé l'évaluation dynamique à l'ensemble des patients atteints de DMD, y compris les patients les plus faibles (Florence et Schierbecker, 1989).

Même si une mesure quantitative ne signifie pas forcément une mesure précise, il semble assez clair que le testing musculaire quantifié permet d'améliorer la fidélité et la sensibilité des mesures de force. Cette méthode donne accès à des traitements statistiques permettant de quantifier la puissance des changements observés. De fait, il est actuellement l'indicateur le plus utilisé pour suivre l'évolution des patients au cours de la maladie et pour quantifier l'efficacité des traitements (Escolar et al., 2011). Cependant, il est important de noter que ces évaluations sont toutes influencées par la motivation (McNair et al., 1996), la capacité des patients à atteindre un niveau d'activation maximal (Piotrkiewicz et al., 1993), et qu'elles peuvent aussi être considérées comme inconfortables voire délétères (Agre et Sliwa, 2000).

Conclusion

La dystrophie musculaire de Duchenne est une dystrophinopathie induisant la non-expression de la protéine dystrophine dans l'organisme. L'absence de celle-ci dans le muscle squelettique provoque une fragilité du sarcolemme, conduisant à d'importantes lésions musculaires et perturbations fonctionnelles. Grâce aux nombreuses études menées *in vitro*, le phénotype fonctionnelle de la maladie a été largement décrit. Entre autres, ces travaux ont révélé une altération des processus chimiques (couplage E-C) et mécaniques (raideur, transmission de force) impliqués dans la contraction musculaire de la souris *mdx*. Ces résultats corroborent l'hypothèse émise par plusieurs auteurs, selon laquelle ces mécanismes participent à une diminution de la force spécifique des fibres musculaires DMD. Toutefois, aucune de ces investigations n'a été menée sur des patients. Les études conduites *in vivo* documentent principalement une altération considérable de la force musculaire absolue et spécifique des patients atteints de la DMD. Ajouté à cela, les patients souffrent d'une augmentation importante de la raideur musculo-tendineuse et musculo-articulaire. Malgré son intérêt clinique incontestable, le caractère fastidieux de l'évaluation de la raideur limite son utilisation en routine clinique. Par conséquent, la capacité de production de force est le paramètre fonctionnel le plus fréquemment utilisé pour suivre l'évolution de la maladie ou pour quantifier l'effet de traitements. Toutefois, bien qu'elle rende compte de l'autonomie des

patients (Uchikawa et al., 2004), cette mesure globale de la force musculaire ne permet ni d'identifier les muscles, ni les structures/mécanismes à l'origine de son évolution au cours de la maladie ou subséquemment à un traitement. En outre, dans l'optique *i)* de mieux documenter l'histoire naturelle de la maladie, *ii)* d'améliorer le suivi et la prise en charge des patients, et à plus long terme, *iii)* de quantifier précisément les potentiels effets d'essais cliniques, le développement de méthodes d'évaluations plus « locales » pourrait être complémentaire aux informations fournies par la force maximale volontaire. Dans ces champs d'applications, deux méthodologies s'appuyant sur l'échographie ultrarapide (Nordez et al., 2009) ont déjà démontré un fort potentiel (Nordez & Hug, 2010 ; Shinohara et al., 2010).

1.2 L'échographie ultrarapide

Découverts en 1883 par Francis Galton, scientifique pluridisciplinaire, et étudiés ensuite à l'École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles (ESPCI) par les frères Curie à la fin du 19^{ème} siècle, les ultrasons (i.e., onde mécanique et élastique de l'ordre du MHz, inaudibles par l'oreille humaine) sont utilisés pour la première fois lors de la première guerre mondiale par l'intermédiaire du Sonar (Graff, 1977). Cet outil, développé initialement pour identifier la présence de sous-marins et de mines ennemis, vise à émettre des ultrasons au sein du milieu aquatique et recevoir leur rétrodiffusion lorsque ceux-ci rencontrent différentes structures. Les premières applications médicales ont vu le jour au milieu du XX^{ème} siècle par l'intermédiaire de Wild et Reid (1952), utilisant le scanner militaire afin de détecter les tumeurs cancéreuses, puis en 1958, dans le domaine de l'obstétrique (Holmes, 1974 ; diagnostic ultrasound). L'échographie naît, puis se démocratise à travers de nombreux domaines (e.g., angiologie, cardiologie, urologie) et notamment en myologie (pour revue, Bianchi et Martinoli, 2007). Cet outil permet d'observer le muscle en temps réel et notamment d'identifier les modifications architecturales induites par l'entraînement (Aagaard et al., 2001 ; Kawakami et al., 1995 ; Narici et Cerretelli, 1998) , la croissance (Binzoni et al., 2001, 2003) le vieillissement (Kubo et al., 2003 ; Karamanidis et Arampatzis, 2006) (pour revue, Blazeovich, 2006) et la pathologie (Heckmatt et al., 1980 ; Zaidman et al., 2010). Toutefois, la cadence d'imagerie proposée par ces échographes (i.e., 50 Hz) ne permet pas d'étudier les phénomènes musculaires brefs (i.e., inférieurs à 20 ms) impliqués dans la contraction musculaire (e.g., couplage E-C, transmission de force) (Nordez et al., 2009) ou les mouvements rapides (Cronin et al., 2011).

1.2.1 Rappels sur l'échographie

Les ondes ultrasonores sont formées à partir du cristal piézo-électrique (ou transducteur) contenu dans la sonde échographique. Le rôle de chacun des transducteurs est de générer des ultrasons *via* des impulsions électriques de haute fréquence, puis de recevoir les ultrasons rétrodiffusés. Classiquement, une image échographique est acquise en focalisant successivement des ultrasons dans le milieu le long de différentes lignes. Le nombre de lignes correspond au nombre de transducteurs piézo-électriques présents dans la barrette ultrasonore (généralement compris entre 64 et 256). Chaque transducteur va donc permettre de constituer une ligne de l'image échographique, *via* l'émission de faisceaux ultrasonores et la réception des signaux rétrodiffusés (figure 8).

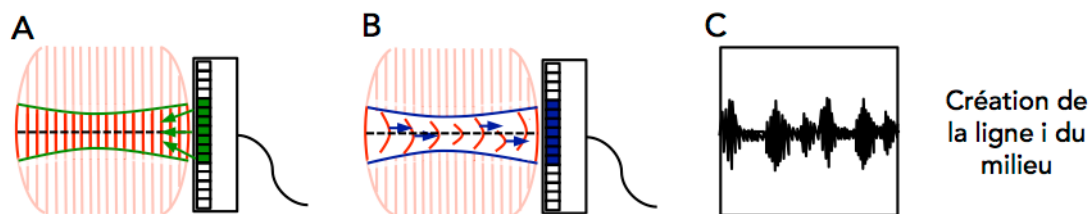


Figure 8: Principe d'acquisition d'une ligne de l'image échographique. Une première phase, dite d'émission (A), vise à éclairer une ligne du milieu en focalisant des ultrasons. La seconde phase, dite de réception (B), consiste à capter les signaux rétrodiffusés de cette ligne (ou élément de la barrette) et à numériser ceux-ci pour imager, via un mode spécifique (mode A sur l'exemple ci-dessus), et faire apparaître la signature acoustique de cette ligne du milieu (exemple ligne i) (C).

Plus précisément, lors de la phase dite « d'émission » plusieurs éléments de la barrette vont participer à la création d'un faisceau ultrasonore jusqu'à une profondeur donnée (ou étape de *beamforming* en émission). Une fois émis, une partie des ultrasons sera rétrodiffusée suite à une rupture d'impédance (changement de milieu) alors que l'autre partie continuera de se propager. Les échos ultrasonores de chaque ligne sont numérisés, enregistrés, et regroupés pour former une matrice de Radio-Fréquence (RF) (ou étape de *beamforming* en réception), contenant la signature acoustique du milieu étudié. Plusieurs modes peuvent décrire cette signature acoustique (mode Amplitude ou A, mode Brillance ou B, et le mode Temps-Mouvement ou TM). La plus commune des représentations est le mode B, révélant la brillance des points selon une gamme de gris. Ainsi, plus la réflexion des ultrasons est importante plus la brillance de l'image est forte (proche du blanc), traduisant une structure très échogène (e.g., tissu collagénique). Dans le cas contraire on parle de structure anéchogène ou hypoéchogène. Le temps d'acquisition nécessaire à la création d'une ligne de cette image

est dépendant du temps mis par les signaux ultrasonores pour faire l'aller-retour jusqu'à la profondeur maximale. En considérant une vitesse moyenne des ultrasons de 1500 m.s^{-1} sur une distance de 12 cm à parcourir (6 cm de profondeur maximale de l'image), il ne peut être inférieur à 0,08 ms. Il faut donc multiplier cette opération par le nombre d'éléments composant la barrette, soit une durée de 10,2 ms pour une barrette de 128 éléments ($128 \times 0,08$) (figure 9A). À cela, il ne faut pas oublier d'ajouter le temps nécessaire à la création de l'image, en mode B dans notre exemple (environ 0,3 ms). Ce procédé permet donc des enregistrements échographiques à une fréquence de 50 à 100Hz, convenant parfaitement aux besoins de l'utilisation clinique classique (suivi du développement du fœtus, identifications des lésions musculaires/tendineuses, gastropathie) (Ødegaard et al., 2004 ; Merz et Bahlmann, 2005 ; Bianchi et Martinoli, 2007).

Afin d'augmenter la fréquence d'imagerie (i.e., nombre d'images par seconde) certaines études proposent de n'utiliser qu'une partie des transducteurs (Cronin et al., 2011) et/ou de réduire la profondeur de la zone investiguée (Witte et al., 2006). L'inconvénient est toutefois de ne disposer que d'une image partielle du milieu.

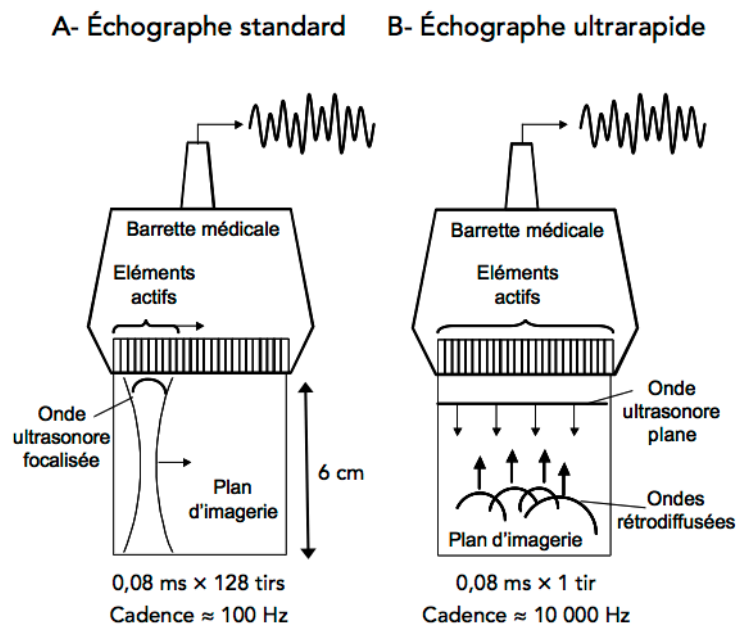


Figure 9: Principe de fonctionnement d'un échographe standard vs. échographe ultrarapide. A- Schématisation du fonctionnement de l'échographe standard. Un tir est nécessaire pour former l'image correspondant à chaque élément de la sonde. Un total de 128 tirs est nécessaire pour former l'image du milieu, soit 10,2 ms/image ($\approx 100 \text{ Hz}$). B- Schématisation du principe de l'échographie ultrarapide. L'illumination du milieu se fait via une onde plane (un tir déclenché par l'ensemble des éléments), les ondes rétrodiffusées sont immédiatement stockées et traitées pour former l'image échographique ($\approx 10\,000 \text{ Hz}$). Figure issue de Gennisson (2003).

1.2.2 Principe de l'échographie ultrarapide

La solution afin d'augmenter la fréquence d'imagerie a donc été de réduire les durées d'acquisition *via* une diminution du nombre de tirs, c'est à dire d'illuminer le milieu grâce à des faisceaux plus larges et de traiter plusieurs lignes simultanément, c'est le mode « *multiligne* ». Ceci permet d'augmenter la cadence par X , X étant le nombre de lignes traitées parallèlement. L'aboutissement de ce principe d'acquisition est le mode « onde plane » (Lu, 1997, 1998). Dans le mode onde plane, un faisceau de la largeur de la barrette échographique est généré. Les signaux rétrodiffusés sont alors stockés en mémoire et analysés *via* un processus classique de *beamforming* en réception. Cette étape a longtemps constitué le « verrou méthodologique » à l'utilisation du mode onde plane. En effet, le premier échographe ultrarapide développé par le Laboratoire des Ondes Acoustiques réalisant l'acquisition de signaux échographiques par onde plane nécessitait 45 minutes de *beamforming* en réception (« *Baie Correlec* », Bercoff et al., 2003). Les innovations technologiques ont ensuite réduit considérablement la durée de cette étape, permettant d'atteindre des cadences d'imagerie jusqu'à 10 000 Hz (Sandrin et al., 2002 ; Tanter et al., 2002) (figure 9B).

À partir de cette méthode, Deffieux et al., (2006) ont montré qu'il était possible d'imager les déplacements de fascicules musculaires du *biceps brachii* au cours de contractions musculaires évoquées électriquement à différentes fréquences (5 à 20 Hz). Plus précisément, en comparant les images consécutives obtenues lors de chaque contraction (1500 Hz), *via* une analyse de « *cross correlation* » à une dimension, les déplacements (μm) des fascicules musculaires ont pu être quantifiés. Cette étude démontre l'excellente résolution temporelle de cette méthode pour suivre le comportement d'un muscle au cours d'une contraction électriquement évoquée (observation de la sommation temporelle et de la tétanie). Deux ans plus tard, cette même équipe de recherche rapporte le potentiel de cette méthodologie pour détecter précisément le début de mouvement des fascicules musculaires (7,1 ms), subséquent à une stimulation électrique musculaire du *biceps brachii* (i.e., *twitch*) (Deffieux et al., 2008).

1.2.3 Le délai électromécanique

1.2.3.1 Définition

Le délai électromécanique (DEM) représente le délai entre le début d'activité

électrique d'un muscle et le début de sa réponse mécanique. Il peut être caractérisé *in vivo* chez l'Homme comme le délai séparant le début d'activité électromyographique (EMG) et le début de production de force externe (Cavanagh et Komi, 1979). Il varie entre 9 et 130 ms lors de contractions volontaires (Kroll et al., 1974 ; Muro et Nagata., 1985 ; Jeon et al., 2014) et entre 7 et 30 ms lors de contractions évoquées électriquement (Grosset et al., 2009 ; Hopkins et al., 2007 ; Muraoka et al., 2004 ; Nordez et al., 2009).

Le DEM est sous l'influence de processus électrochimiques (*i*) et mécaniques (*ii*) (Cavanagh et Komi, 1979). Il est en effet conditionné par le temps nécessaire à *i*) la propagation du potentiel d'action musculaire, la transmission synaptique et le couplage excitation-contraction (Zhou et al., 1996 ; Sasaki et al., 2011 ; Rampichini et al., 2014), ainsi que *ii*) l'étirement des structures placées en série de la composante contractile, regroupées dans la composante élastique série [CES, fractionnée en deux parties, active (CES_1) : ponts myofibrillaires, passive (CES_2) : aponévrose et tendon] (Muraoka et al., 2004 ; Sasaki et al., 2011) (figure 10).

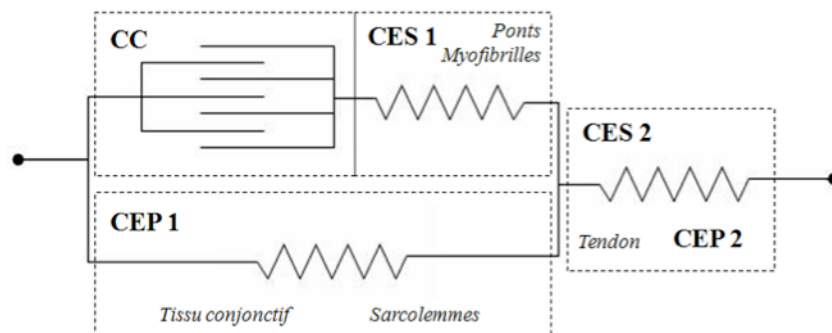


Figure 10: Modèle du complexe musculo-tendineux de Hill modifié à trois composantes. CC : composante contractile ; CES : composante élastique série composée d'une fraction active (CES_1) et passive (CES_2); CEP : composante élastique parallèle. Modifiée d'après Zajac (1989).

Afin d'inférer sur l'efficacité de ces différents mécanismes, le DEM a été caractérisé à la suite d'une tâche fatigante (Zhou et al., 1998 ; Yavuz et al., 2010), en réponse à un programme d'entraînement (Grosset et al., 2009), après la reconstruction d'un ligament croisé antérieur (Ristanis et al., 2009), chez des patients atteints de pathologies neuromusculaires (Orizio et al., 1997 ; Granata et al., 2000). La limite majeure de la plupart de ces études est qu'elles ne déterminent pas la contribution relative de chacun des mécanismes et structures impliqués dans le DEM.

1.2.3.2 *Le délai électromécanique – Considérations méthodologiques*

L'interprétation du DEM évalué lors de contractions volontaires requiert certaines précautions (Hug et al., 2011a). La localisation des électrodes EMG permettant de détecter le début d'activité du muscle constitue la limite majeure.

Ce constat résulte notamment des observations faites au cours de mon travail de recherche de Master 1 (Hug et al., 2011a). Dans ce travail, nous avons positionné une matrice d'électrodes EMG (64 voies) sur le *biceps brachii* des participants afin de quantifier la variabilité spatiale du DEM lors de contractions maximales volontaires. Nos résultats ont permis d'apprécier l'importante variabilité spatiale du DEM (figure 11). Deux hypothèses fortes peuvent expliquer ces constatations. Tout d'abord, il est nécessaire de rappeler que le début de production de force est associé aux premières fibres musculaires recrutées (Nordez et al., 2009). Par conséquent, lorsque les électrodes EMG sont placées entre le point moteur et la jonction myotendineuse, il existe un délai entre l'activation des premières fibres localisées près du point moteur et l'activité myoélectrique détectée par l'EMG. En considérant une vitesse de propagation des potentiels d'action de $4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ (Moritani et al., 2004), la position des électrodes par rapport au point moteur conditionne la détection du début d'activité EMG du muscle (e.g., un déplacement de 2 cm de l'électrode par rapport au point moteur peut modifier de 5 ms le DEM d'un muscle fusiforme). C'est d'ailleurs la tendance qui se dégage de l'exemple typique issu de mon travail de Master 1, présenté figure 11. En outre, la variabilité spatiale du recrutement des fibres musculaires (Holtermann et al., 2005) influence également la relation entre la position des électrodes EMG et le DEM mesuré.

Enfin, il convient de noter que la contraction musculaire volontaire ou induite par stimulation électrique du nerf moteur, va provoquer la contraction de tous les muscles agonistes. Par conséquent, le début de production de force observé est le résultat d'un, de plusieurs, ou de l'ensemble des muscles recrutés (Hug et al., 2011a). Ainsi, le DEM ne peut être imputé à un muscle en particulier. Dans cette perspective, il est préférable de stimuler électriquement un muscle « cible » (Li et al., 2002 ; Maganaris et Paul, 1999, 2002 ; Muraoka et al., 2004 ; Nordez et al., 2009 ; Sasaki et al., 2011) afin d'inférer le comportement des structures et mécanismes impliqués dans le DEM de celui-ci. Dans ces conditions expérimentales le DEM est particulièrement répétable ($\text{ICC} > 0,85$; $\text{CV} < 6,1 \%$; Sasaki et

al., 2011).

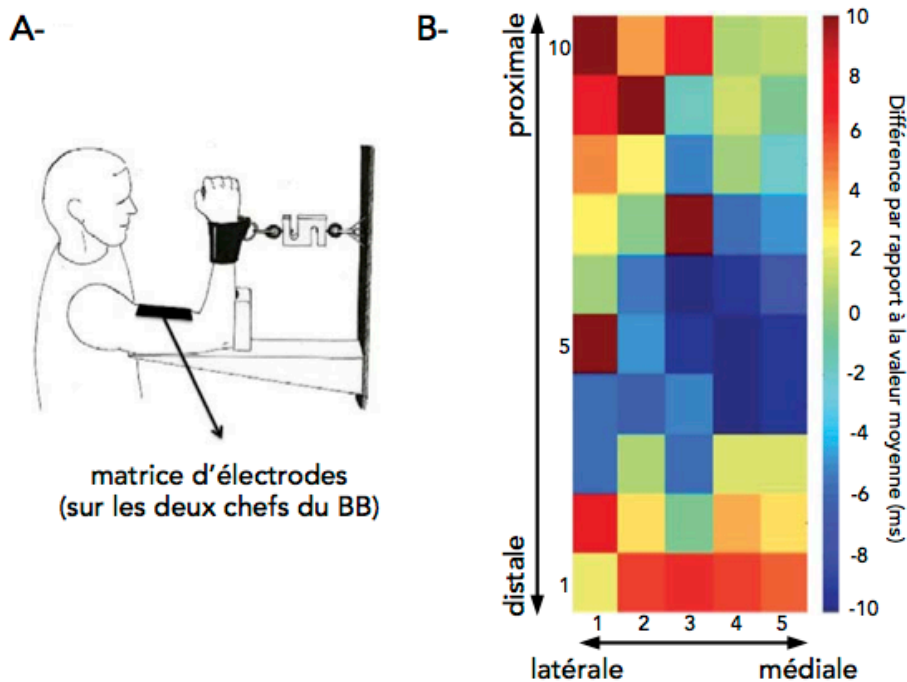


Figure 11: Caractérisation de la variabilité spatiale du délai électromécanique. A- Schématisation de la configuration expérimentale. La matrice d'électrodes (64 voies) est positionnée sur les deux chefs du *biceps brachii* (BB) et le poignet est solidarisé au capteur de force. B- Cartographie typique de la différence de début d'activité EMG (par rapport à la valeur moyenne). Le continuum de couleur traduit une différence de 10 ms (rouge vif) jusqu'à -10ms (bleu marine). Par souci de clarté, seulement 50 des 64 électrodes sont représentées sur cette figure (les électrodes les plus distales et proximales n'apparaissent pas). Figure issue de Hug et al., (2011a).

1.2.3.3 Apport de l'échographie ultrarapide

Une caractérisation plus complète du DEM pourrait inclure la détection du début de mouvement des fascicules musculaires et du tendon afin de dissocier leurs contributions respectives. L'échographie est classiquement utilisée pour quantifier ces déplacements en temps réel, au cours de contractions musculaires ou d'étirements passifs (Cronin et al, 2011 ; Herbert et al., 2011). Quelques études ont utilisé une nouvelle génération d'échographes permettant des fréquences d'acquisition plus élevées (200-333Hz) afin de déterminer le début de mouvement des fascicules musculaires ou du tendon lors d'une contraction musculaire évoquée électriquement (Chen et al., 2009 ; Pulkovski et al., 2008). Cependant, la résolution temporelle utilisée dans l'étude de Chen et al. (2009) est faible (5ms) au regard du délai électromécanique rapporté (18,3 ms ; soit 27% du DEM du *vastus obliquus*) (Nordez et al.,

2009). La dernière génération d'échographes ultrarapides, présentée en section 1.2.2, offrant la possibilité d'acquérir des signaux ultrasonores à plus de 5 kHz, a récemment été utilisée par Nordez et al. (2009) pour quantifier les contributions relatives des principaux mécanismes et structures impliqués dans le DEM. Cette expérimentation a permis de caractériser *in vivo* sur le *gastrocnemius medialis* le délai entre *i*) la stimulation électrique et le début de mouvement des fascicules musculaires (Dm), *ii*) le début de mouvement des fascicules et le début de mouvement de l'insertion myotendineuse (i.e., extrémité proximale du tendon) (Dt), et *iii*) le début de mouvement de l'insertion myotendineuse et le début de production de la force au niveau du pied (figure 12).

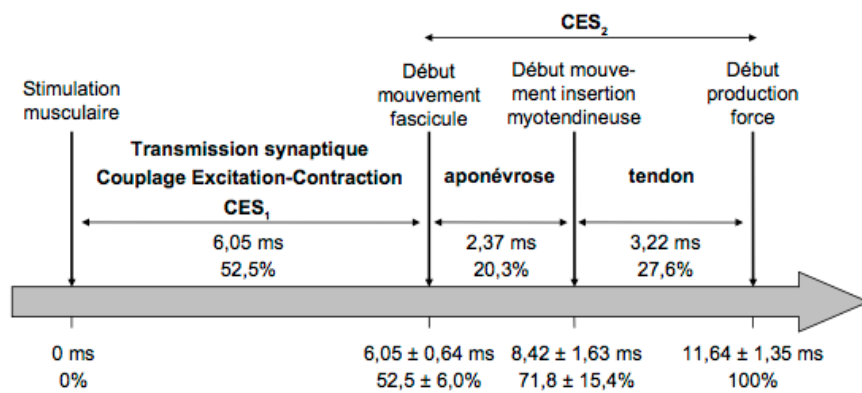


Figure 12: Représentation schématique des contributions relatives des structures et mécanismes impliqués dans le DEM. Le début de mouvement des fascicules musculaires et de l'insertion myotendineuse a été mesuré au moyen de l'échographie ultrarapide. Ces résultats permettent d'en déduire la contribution relative des processus électrochimiques [i.e., transmission synaptique, couplage E-C, ponts myofibrillaire (CES₁)] et de transmission de la force [i.e., fraction passive de la CES (CES₂) et de chacune des deux principales structures qui la composent : aponévrose et tendon] dans le délai électromécanique. D'après Nordez et al. (2009).

À partir de cette technique, les auteurs montrent que la durée des processus électrochimiques représente 52,5 % du DEM et que les 47,5 % restants sont influencés par le temps nécessaire à l'étirement de la fraction passive de la CES, au sein de laquelle le tendon représente une part légèrement plus importante ($27,6 \pm 11,4$ %) que l'aponévrose ($20,3 \pm 10,7$ %) (figure 12). Les auteurs rapportent une répétabilité acceptable (Hopkins, 2000) pour chacun des paramètres mesurés, avec un CV de 11,6 % (erreur de mesure de 0,66 ms), 10,5 % (erreur de mesure de 0,54 ms) et 6,3 % (erreur de mesure de 0,71 ms) pour Dm, Dt et DEM, respectivement. Cette méthodologie renseigne de manière non-invasive et fidèle sur les délais associés au fonctionnement de certains mécanismes/structures que l'on ne pouvait jusqu'alors pas quantifier (e.g., couplage E-C, transmission de la force au sein du muscle, du tendon).

Dans une perspective d'évaluation de patients atteints de la DMD, ces mêmes auteurs ont utilisé cette procédure sur un muscle plus « accessible » (*biceps brachii*, BB) (Hug et al., 2011b). Les résultats de cette étude indiquent que le DEM du BB est relativement identique à celui observé sur le GM (i.e., DEM \approx 10,0 ms et \approx 11,5 ms pour le BB et le GM, respectivement). Concernant les mécanismes impliqués dans le DEM, si la durée nécessaire aux processus électrochimiques (Dm) est également très proche entre les deux muscles (i.e., Dm \approx 5,6 ms et \approx 6,0 ms pour le BB et le GM, respectivement), la transmission de force au sein du BB est quant à elle singulière. Plus précisément, on constate que le début de mouvement de la jonction myotendineuse est concomitant au début de mouvement des fascicules musculaire du BB. Pour rappel, un délai de \approx 2,4 ms existait entre ces deux évènements sur le GM (Nordez et al., 2009). Deux hypothèses ont été avancées pour expliquer la dichotomie de ces résultats : la différence d'architecture (muscle penné vs. fusiforme) et la différence de tension passive. Plus précisément, l'angle articulaire utilisé dans l'étude de Nordez et al. (2009) induisait une longueur musculaire du GM supérieur à celle observée à la *slack length* (i.e., longueur à laquelle le système musculo-tendineux commence à développer une force élastique passive) (Muraoka et al., 2004 ; Hoang et al., 2007 ; Maïsetti et al., 2012). *A contrario*, l'étude de Hug et al. (2011b) était, *a priori*, réalisé à une longueur inférieure à la *slack length* (i.e., 90° de flexion du coude) (Garner et Pandy, 2003). Dans cette dernière configuration, des déplacements de type solide-rigide devraient être générés dans tout le muscle, ce qui pourrait expliquer la survenue concomitante des débuts de mouvement de la jonction myotendineuse et des fascicules musculaires (Hug et al., 2011b).

1.2.3.4 Méthode alternative de distinction des processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans le DEM.

Bien avant le développement de l'échographie ultrarapide, plusieurs méthodes (phonomyographie, mécanomyographie) ont permis d'étudier *in vitro* le début de la contraction musculaire chez la grenouille (Close, 1981 ; Foulks et Perry, 1966 ; Hill, 1949). La mécanomyographie a ensuite été appliquée *in vivo* pour apprécier l'activité musculaire de sujets sains (Barry, 1992 ; Petitjean et al., 1998) et de patients atteints de pathologies neuromusculaires (Orizio et al., 1997). La mécanomyographie utilise, entre autres, l'accélérométrie pour détecter le début de la contraction du muscle suite aux vibrations mécaniques générées par le raccourcissement de ses fibres (Barry, 1992 ; Orizio et al., 1997). Cette méthode, plus indirecte, a également été utilisée pour calculer les contributions relatives

des processus électrochimiques et mécaniques du muscle impliqués dans le DEM (Sasaki et al., 2011 ; Rampichini et al., 2014). La détection du début de raccourcissement des fibres semble être plus précoce à partir de l'accélérométrie (début de mouvement des fibres du *biceps brachii* 3,3 ms et 5,6 ms après la stimulation électrique, respectivement pour Sasaki et al. (2011) par accélérométrie et Hug et al. (2011b) *via* l'échographie ultrarapide). Les raisons exactes de ces différences entre les deux méthodes restent toutefois à déterminer. Il faut préciser que la mesure effectuée par mécanomyographie est plus indirecte car réalisée en surface. Il pourrait donc être intéressant, dans le futur, de comparer les délais temporels obtenus par échographie ultrarapide et par mécanomyographie. Cette dernière méthode a d'ailleurs permis de décrire la relation entre l'efficacité de la transmission de force et la longueur musculaire (Sasaki et al., 2011), mettant en évidence l'effet d'une tâche fatigante sur les processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans le DEM (Rampichini et al., 2014). Les travaux de Rampichini et al. (2014) ont montré qu'un exercice fatiguant appliqué sur le *tibialis anterior* entraîne une augmentation immédiate (1 minute après l'exercice) de \approx 14% du délai entre le début d'activité électrique musculaire et le début de mouvement du muscle (principalement attribuable au couplage E-C) et de \approx 20% du délai entre le début de mouvement du muscle et le début de production de force (attribuable à la transmission de la force le long de la CES₁ et de la CES₂) (Rampichini et al., 2014). Si l'altération des mécanismes électrochimiques est transitoire (retour aux valeurs « *baseline* » 2 minutes après l'exercice), la perturbation des mécanismes impliqués dans la transmission de la force persiste 7 minutes après l'exercice.

Conclusion

Le DEM est un phénomène physiologique qui a largement été investigué pour inférer sur les propriétés contractiles du muscle (Zhou et al., 1995 ; Orizio et al., 1997). L'étude de ce mécanisme lors de contractions électriquement évoquées permet de s'affranchir de nombreuses limites méthodologiques (e.g., investissement du patient) et d'investiguer un muscle cible. En outre, la récente « revisite » du DEM par échographie ultrarapide permet de réduire les spéculations aux composantes électrochimiques et mécaniques du muscle d'intérêt (Nordez et al., 2009 ; Hug et al., 2011b).

Considérant les perturbations du couplage E-C (Woods et al., 2005) et de la transmission de force longitudinale et transversale observées chez les souris *mdx* (Claflin et Brooks, 2008 ; Ramaswamy et al., 2011), une modification des proportions relatives des composantes électrochimiques et mécaniques du DEM peut être supposée chez les patients.

De surcroît, le caractère non-invasif et local de cette mesure permettrait de prétendre aux perspectives mentionnées en conclusion de la partie I. Le DEM apparaît donc clairement comme un candidat de choix pour l'évaluation des propriétés électrochimiques et mécaniques de patients atteints de la DMD.

Dans ce même champ d'applications, le développement récent d'une technique d'élastographie permettant de mesurer la raideur locale des tissus biologiques semble particulièrement intéressant (Supersonic Shear Imaging, SSI) (Bercoff et al., 2004). En effet, contrairement aux méthodes expérimentales fastidieuses présentées section 1.1.3.2, cette technique d'élastographie, basée sur l'imagerie échographique ultrarapide, peut être utilisée sur le muscle au repos par l'intermédiaire d'une sonde échographique standard.

1.3 Évaluation de la raideur musculaire par élastographie

La raideur ou son inverse, la compliance, est une propriété mécanique du muscle très étudiée dans la littérature scientifique pour évaluer, comprendre et améliorer la performance dans les domaines cliniques et sportifs. La raideur des structures musculaires et tendineuses influence le processus de stockage et de restitution de l'énergie potentielle élastique, et donc la performance motrice (Kubo et al., 2001 ; Kirk et al., 2000 ; Günther et Blickhan, 2002). Au delà des points méthodologiques énoncés précédemment, la limite majeure commune aux méthodes classiques d'évaluation de la raideur du système musculo-tendineux en condition passive (i.e., relation couple-angle) et active (i.e., détente rapide et perturbations sinusoïdales), est qu'elles ne permettent pas de dissocier les propriétés élastiques des différents muscles impliqués dans la raideur globale. Déterminer la raideur d'un muscle cible est intéressant pour quantifier les contributions relatives de chacun des muscles, mieux comprendre la motricité d'un individu et adapter la prise en charge (e.g., muscle ciblé lors des étirements, etc.). L'échographie, qu'elle soit standard ou ultrarapide, ne peut solutionner seule ce « verrou méthodologique ». En effet, deux muscles ou tissus biologiques avec des « duretés » totalement différentes, peuvent donc avoir des aspects similaires à l'échographie. Cependant, si l'on considère la relation entre la vitesse de propagation des ondes de cisaillement et la raideur du tissu (Sarvazyan, 1995), l'utilisation de l'échographie ultrarapide pour imager la propagation des ondes à l'intérieur du muscle est un concept particulièrement séduisant.

1.3.1 Définition de l'élastographie

Le principe des méthodes d'élastographie est d'évaluer l'élasticité d'un tissu en quantifiant par imagerie les effets induits par une sollicitation mécanique. Pour ce faire, une première étape vise à exciter le milieu par application d'une contrainte statique ou dynamique, puis une seconde permet de quantifier l'effet de cette perturbation (e.g., déplacement d'éléments du milieu, vitesse de propagation de l'onde de cisaillement). Il existe de nombreuses techniques d'élastographie, se différenciant tant par le type d'excitation que par les méthodes d'imagerie utilisées. Parmi ces techniques, on distingue deux grands types : l'élastographie statique et l'élastographie dynamique. Les parties suivantes de ce manuscrit s'attacheront uniquement à présenter les techniques d'élastographie dynamique.

1.3.2 Étude de la propagation des ondes mécaniques

Une onde mécanique représente des déplacements locaux et temporaires des éléments constitutifs d'un milieu, suite à une rupture locale des conditions d'équilibre (Royer et Dieulesaint, 1996). On observe des ondes dites « stationnaires » (qui restent au même point), correspondant à une vibration d'intensité différente de chaque point du milieu, et les ondes dites « progressives », se propageant de proche en proche. Parmi les ondes progressives, on distingue : les ondes de compression (généralement nommées « ondes P ») qui sont des variations successives de volume du milieu parallèlement à la direction de la propagation de l'onde, et les ondes de cisaillement (généralement nommées « ondes S ») qui sont des mouvements successifs perpendiculaires à la direction de propagation de l'onde (figure 13 ; Gennisson et al., 2013).

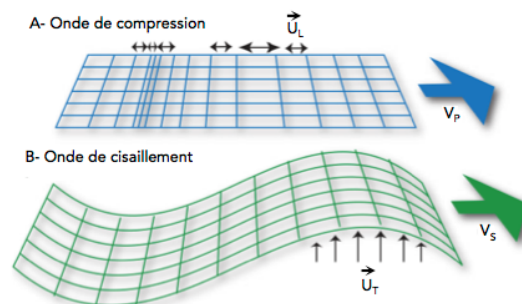


Figure 13: Les ondes progressives : onde de compression et onde de cisaillement. A- L'onde de compression se propage par des variations de volume successives du milieu (champ de déplacement longitudinal U_L), parallèlement à la direction de propagation. B- L'onde de cisaillement se propage par des mouvements successifs perpendiculaires à la direction de propagation (champ de déplacement transversal U_T). La célérité ou vitesse de chacune de ces ondes peut être calculée (V_P et V_S). Figure adaptée de Deffieux (2008).

Dans les tissus biologiques, la vitesse de propagation de l'onde de compression est à peu près constante et avoisine les 1500 m.s^{-1} . En revanche, l'onde de cisaillement se propage beaucoup plus lentement, typiquement entre 1 et 20 m.s^{-1} . Cette dichotomie entre la vitesse de propagation de l'onde de compression et l'onde de cisaillement est liée à la « quasi-incompressibilité » des tissus biologiques, et au contraire, leur importante « déformabilité ». Plus objectivement, dans un milieu linéaire élastique isotrope, la vitesse de propagation des ondes de compression (V_p) et des ondes de cisaillement (V_s) peut être calculée de la manière suivante (Royer et Dieulesaint, 1989, 1996):

$$V_p = \sqrt{\frac{K}{\rho_0}} \text{ et } V_s = \sqrt{\frac{\mu}{\rho_0}} , \quad \text{Eq. 1}$$

où ρ_0 est la masse volumique (environ égale à 1000 kg.m^{-3}), K le module d'élasticité de compression (figure 14A), et μ le module d'élasticité de cisaillement (figure 14B).

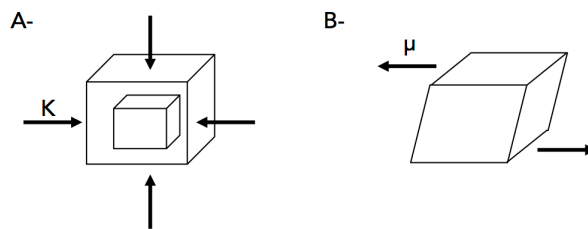


Figure 14: Modules élastiques de compression (K) et de cisaillement (μ). Application d'une contrainte de compression (A-) et de cisaillement (B-). Adaptée de Tanter et al., (2007).

Ainsi, la vitesse des ondes est conditionnée par les coefficients de compression (K) et de cisaillement (μ). Ces coefficients peuvent être calculés de la manière suivante :

$$\lambda = \frac{E\nu}{(1 + \nu)(1 - 2\nu)} \text{ et } \mu = \frac{E}{2(1 + \nu)} , \quad \text{Eq. 2}$$

où λ est le premier coefficient de Lamé, le coefficient de poisson est noté ν , et le module d'Young noté E . Les tissus biologiques étant quasi-incompressibles $\nu \approx 0,5$ (il est égal à 0,5 pour les tissus totalement incompressibles), K nettement supérieur à μ , puis $K \approx \lambda$, on obtient donc :

$$E \approx 3\mu , \quad \text{Eq. 3}$$

En reprenant l'équation 1 et 3, on observe que le module d'élasticité de cisaillement d'un tissu est, à une constante près (ρ_0), le carré de la vitesse de propagation de l'onde de cisaillement (Eq. 4).

$$\mu = \rho_0 V_s^2. \quad \text{Eq. 4}$$

La caractérisation de la vitesse de propagation d'une onde permet donc de renseigner sur la raideur d'un milieu. Le contraste est ainsi saisissant entre les variations de module de compression (10^1 Pa) et de cisaillement (10^8 Pa) observées dans les différents tissus biologiques (figure 15) (Sarvazyan, 1995). Compte tenu de leur capacité à discriminer la raideur de différents tissus, la mesure de la vitesse de propagation des ondes de cisaillement représente l'objectif de toutes les méthodes d'élastographie dynamique.

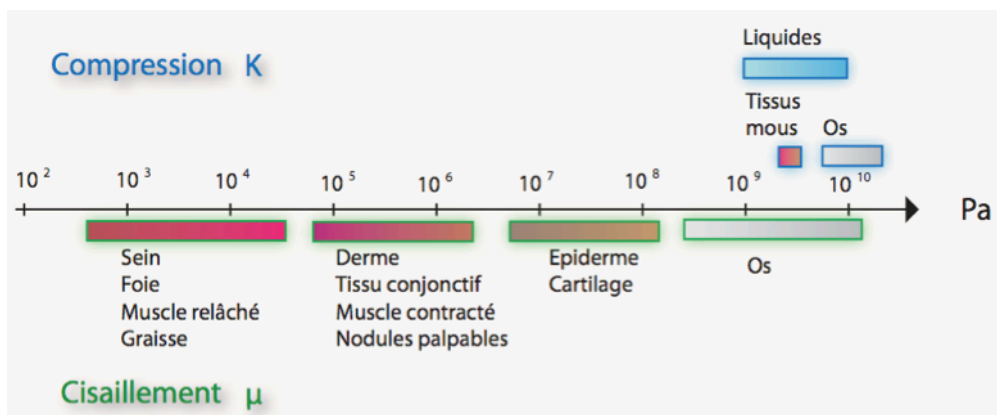


Figure 15: Modules de compression (K) et de cisaillement (μ). Le module de cisaillement varie de plusieurs ordres de grandeurs selon les différents tissus traversés, alors que le module de compression reste toujours très proche de celui de l'eau. Figure adaptée de Deffieux (2008).

Il est également important de rappeler que le module d'Young ne peut être utilisé pour quantifier l'élasticité du muscle car ce dernier est anisotrope (Royer et al., 2011 ; Gennisson, 2003 ; Gennisson et al., 2010). Par conséquent, les propriétés élastiques doivent être exprimées selon la vitesse de la propagation des ondes de cisaillement ($m.s^{-1}$), ou bien du module d'élasticité de cisaillement (kPa) (Royer et al., 2011). Il n'en reste pas moins qu'il s'agit d'une propriété mécanique pertinente qui est tout du moins bien corrélée au module d'Young (Eby et al., 2013).

Par ailleurs, l'étude du muscle par élastographie se base sur l'hypothèse d'un matériau purement élastique linéaire (e.g., Bercoff et al., 2004 ; Catheline et al., 2004 ; Heers et al., 2003 ; Jenkyn et al., 2003 ; Uffmann et al., 2004). L'amplitude de l'onde de cisaillement est effectivement particulièrement faible (quelques μm) et les effets non-linéaires sont négligeables. Finalement, l'équation 4 considère un matériau purement élastique et

implicitement néglige l'influence de la viscosité. En effet, l'influence de cette propriété mécanique (viscosité) sur la vitesse de l'onde de cisaillement mesurée à déjà été étudiée (Catheline et al., 2004 ; Deffieux et al., 2004). À partir de mesures longitudinales aux fibres musculaires effectuées par SSI, Deffieux et al., (2004) ont montré que la vitesse de l'onde de cisaillement était presque indépendante de la fréquence de la perturbation mécanique et ne révélait aucun effet visqueux significatif. Des résultats similaires ont été obtenus par élastographie impulsionnelle à une dimension (Catheline et al., 2004). Dans ces conditions d'étude, l'influence de la viscosité sur le module d'élasticité de cisaillement peut être considéré comme négligeable.

1.3.3 Les méthodes d'élastographie dynamique

L'Élastographie par Résonance Magnétique (ERM) Nucléaire est basée sur une excitation monochromatique du milieu grâce à un vibreur placé en surface de la peau (environ 100 Hz pour l'homme, Li et Schnedeker, 2011) et une caractérisation de la vitesse de propagation des ondes de cisaillement *via* une séquence d'imagerie par résonance magnétique (IRM). Une estimation du module de cisaillement est réalisée en trois dimensions avec excellente résolution spatiale (Bensamoun et al., 2006, 2008 ; Debernard et al., 2013 ; Dresner et al., 2001 ; Jenkyn et al., 2003) (figure 16).

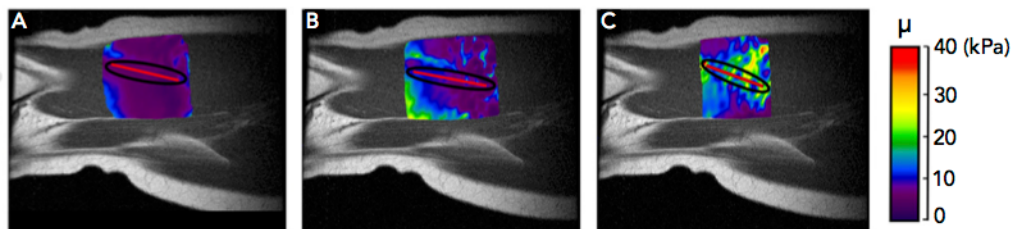


Figure 16: Images IRM et cartographies du module d'élasticité de cisaillement du vastus medialis obtenues par élastographie par résonance magnétique. Cartes d'élasticité de jeunes adultes au repos (A), à 10% de la CMV (B) et 20% de la contraction maximale volontaire (C). La ligne rouge indique l'orientation des fascicules musculaires et donc la direction de propagation des ondes de cisaillement. Le module d'élasticité (μ) est exprimé en kPa et est représenté en chaque point de la carte via un code couleur. Adaptée de Debernard et al., (2011).

L'utilisation de cette méthode a notamment permis de quantifier les effets de la paraplégie spastique (Basford et al., 2002) et d'amyotrophie unilatérale (Ringleb et al., 2007). En outre, Bensamoun et al. (2007) ont montré une diminution de ≈ 160 % du module d'élasticité de repos du *vastus medialis* chez 4 patients atteints d'hyperthyroïdie. Au regard de la

modification myotypologique générée par cette pathologie (i.e., augmentation de la proportion en fibre de type II), les auteurs attribuent en partie cette diminution du module à la compliance plus importante des fibres rapides. Cette équipe de recherche a également constaté que l'administration d'iode radioactive chez ces patients était associée à une augmentation du module d'élasticité jusqu'à des valeurs similaires à celles des sujets sains. Certains inconvénients peuvent restreindre son utilisation clinique, et notamment le coût inhérent à l'utilisation de l'IRM, la difficulté à standardiser le stimulus mécanique (Uffman et al., 2004 ; Ringleb et al., 2007), ainsi que le temps d'acquisition (allant d'une quinzaine de secondes à une dizaine de minutes ; Bensamoun et al., 2008) sans mouvement du sujet.

À l'inverse, l'élastographie impulsionnelle consiste à générer la propagation d'une onde de cisaillement par l'application d'une impulsion mécanique unique et brève sur le milieu (Catheline, 1998 ; Gennisson, 2003 ; Sandrin et al., 2002) au moyen d'un pot vibrant (Sandrin et al., 2002) (figure 17).

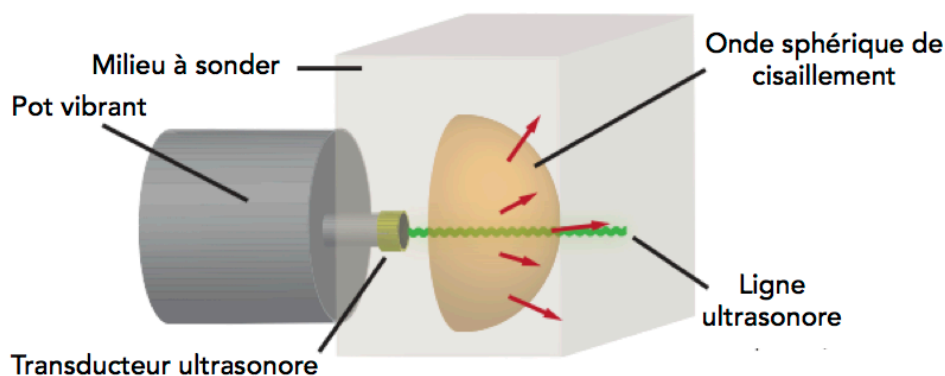


Figure 17: Éléments du palpeur acoustique. Le transducteur ultrasonore est placé sur le vibreur (pot vibrant) (Gennisson, 2003), et permet de suivre l'onde de cisaillement propagé dans le milieu, immédiatement après l'application du choc basse fréquence (50-600Hz). Adaptée de Deffieux, (2008).

La propagation de l'onde de cisaillement est suivie par échographie ultrarapide, puis l'algorithme d'intercorrélacion (Catheline, 1998) permet d'estimer sa vitesse dans l'axe de la profondeur (une dimension). Cet outil de « palpation quantitative » à distance a notamment permis de quantifier l'état fibrotique du foie (Sandrin et al., 2003). Des mesures ont également été réalisées sur le muscle au repos et en contraction (Gennisson et al., 2005 ; Nordez et al., 2008b). Toutefois, dans ces conditions, cette méthode révèle une répétabilité modérée (Nordez et al., 2008b). Les deux principales raisons mises en cause sont *i)* la difficulté à standardiser l'impulsion mécanique pour un tissu dur comme le muscle et *ii)* le caractère

unidirectionnel de la mesure (i.e., une ligne de l'image), assez peu représentatif de l'état global du muscle.

L'Acoustic Radiation Force Imaging (ARFI) est également une technique d'élastographie basée sur une perturbation impulsionnelle ultrasonore (à la différence de l'impulsion mécanique de la précédente méthode) (Nightingale et al., 2001). Pour ce faire cette méthode excite le milieu *via* la « pression de radiation » (Torr, 1984). Ce concept physique vise à focaliser des ultrasons à une vitesse d'environ 10 m.s^{-1} , tel un « vent acoustique », pour « pousser » les tissus à distance. Ainsi, la focalisation ultrasonore est réalisée à une vitesse supérieure à celle de l'onde de cisaillement qu'elle génère : c'est le régime supersonique. Cette technologie permet de s'affranchir du vibreur externe utilisé auparavant en échographie impulsionnelle, et donc de standardiser l'émission de l'onde de cisaillement. Le mouvement des tissus induit par la propagation de l'onde de cisaillement est ensuite suivi par échographie. Cependant, la fréquence d'acquisition ultrasonore est insuffisante pour suivre la propagation complète de l'onde dans le milieu. Par conséquent, il est nécessaire de répéter les phases d'excitation pour obtenir un spectre d'élasticité complet de la zone d'intérêt. Ceci conduit inévitablement à une durée d'acquisition longue et souvent à un échauffement des tissus (Palmeri et Nightingale, 2004).

1.3.4 Apport de l'échographie ultrarapide : Supersonic Shear Imaging

Les limites inhérentes aux deux précédentes méthodes d'élastographie impulsionnelles semblent être contrecarrées grâce à une méthode d'élastographie nommée « *Supersonic Shear Imaging* » (SSI) (Bercoff et al., 2004). Cette méthode d'élastographie impulsionnelle allie la pression de radiation et l'échographie ultrarapide pour respectivement, générer l'onde de cisaillement et imager sa propagation dans le milieu (figure 18). Le premier concept clé de cette méthode est la pression de radiation présentée dans le paragraphe précédent. Le second concept clé est de basculer ensuite en mode d'imagerie ultrarapide, et ainsi quantifier la vitesse de propagation de l'onde dans le milieu *via* une succession d'ondes planes ultrasonores (figure 18B). La vitesse de l'onde caractérisée se fait dans la direction suivant l'axe principal de la sonde échographique, permettant aisément une correspondance entre cette direction et celle des fibres musculaires, classiquement étudiée sur le muscle isolé ou *in vivo*. La succession de ces deux étapes à partir d'un seul accessoire (la sonde échographique) rend donc possible la mesure de l'élasticité du milieu en deux dimensions (« palpation à

distance » de tous les points du milieu), et ce, en moins de 20 millisecondes (Bercoff et al., 2004), soit une durée inférieure au temps nécessaire entre deux images échographiques conventionnelles. Par conséquent, le couplage entre la pression de radiation et l'échographie ultrarapide, semble résoudre les problèmes posés par les techniques d'élastographie impulsionnelle antérieures.

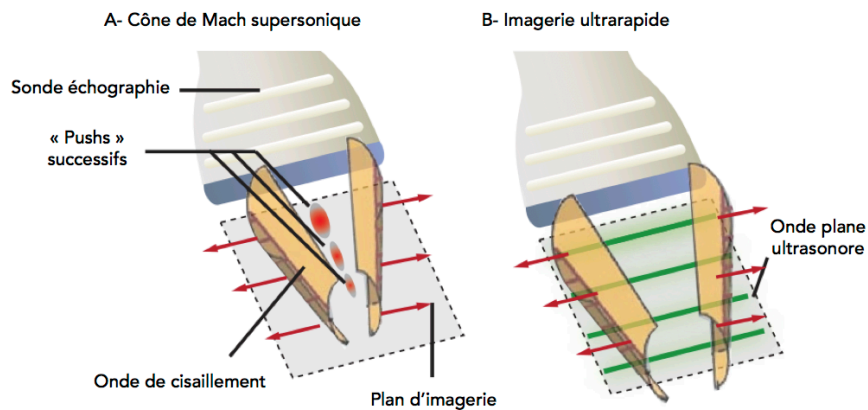


Figure 18: Principe de la technique « Supersonic Shear Imaging ». A- Les ultrasons sont focalisés successivement à des profondeurs différentes pour créer des poussées par pression de radiation (« pushes »). Les interférences constructives des ondes de cisaillement forment un cône de Mach supersonic (i.e., la vitesse de propagation de la source est supérieure à celle de l'onde générée), créant une onde plane de cisaillement (flèches rouge). B- L'échographe bascule immédiatement en mode d'imagerie ultrarapide pour suivre la propagation de l'onde de cisaillement dans le milieu. Adaptée de Deffieux (2008).

1.3.5 Évaluation du muscle au repos par SSI

Plusieurs travaux ont utilisé la technique SSI pour quantifier l'élasticité du muscle au repos (Lacourpaille et al., 2012), et lors d'étirements passifs (Maïsetti et al., 2012 ; Koo et al., 2013 ; Loeng et al., 2013). Les avantages méthodologiques revendiqués de cette technique sont qu'elle permet une mesure en temps réel, locale, quantitative, indolore et qu'elle est facile à appréhender par le patient, de la même manière qu'une « simple » échographie. Ce dernier avantage est particulièrement important pour réaliser des mesures au repos comme proposé dans nos travaux, puisqu'elles impliquent le « relâchement » maximum des sujets. Aussi, le travail que j'ai réalisé dans le cadre de mon master 2 a révélé la bonne fidélité de cette méthode (Lacourpaille et al., 2012). Plus précisément, l'objectif de cette étude était de caractériser la répétabilité, la reproductibilité et l'accord inter-observateurs des mesures obtenues sur 9 muscles au repos. Nous avons fait le choix de caractériser le muscle dans cet « état » car il revêt un avantage considérable pour l'évaluation des patients atteints de pathologies neuromusculaires. Cette étude constituait donc une étape préliminaire à mes

travaux de thèse réalisés chez les patients atteints de la DMD. Ainsi, 30 sujets sains ont été assignés de manière randomisée dans les conditions d'évaluation : répétabilité ($n=20$), reproductibilité ($n=21$), accord inter-observateurs ($n=16$). La figure 19 présente le positionnement du sujet et de la sonde pour chacun des muscles testés.

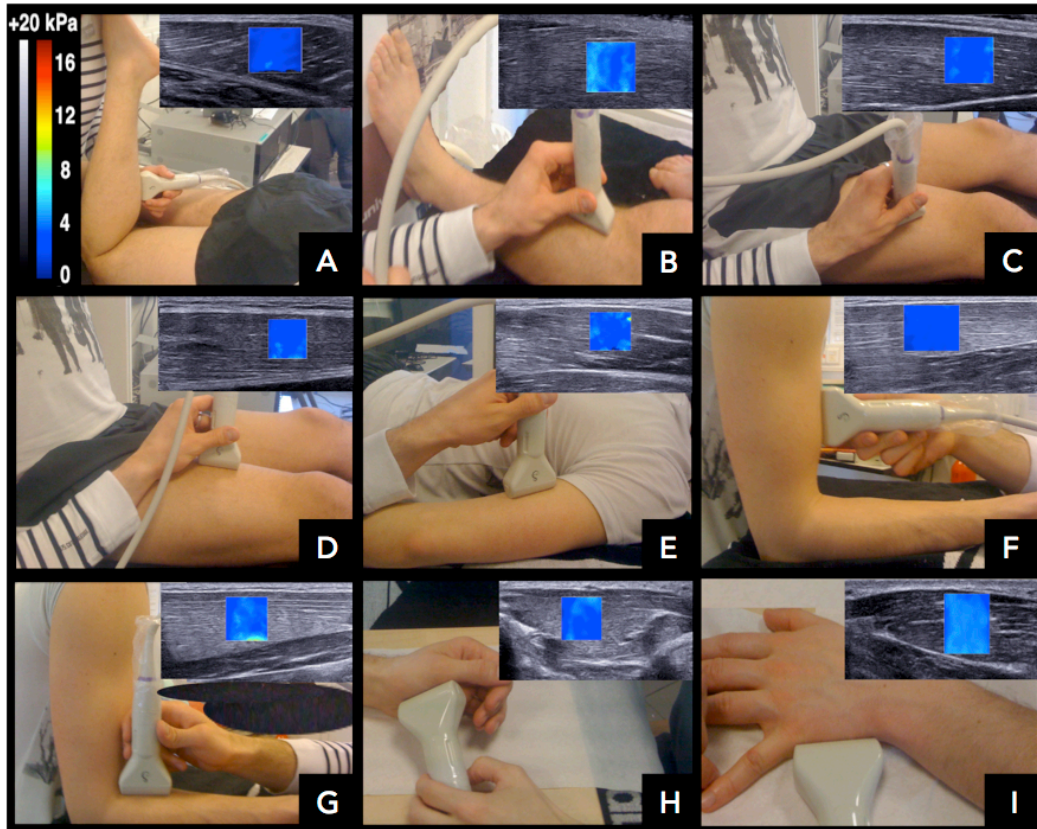


Figure 19: Positionnement du membre et de la sonde pour les 9 muscles étudiés, associés à l'image échographique et à la carte d'élasticité obtenue. A- gastrocnemius medialis, B- tibialis anterior, C- vastus lateralis, D- rectus femoris, E- triceps brachii, F- biceps brachii, G- brachioradialis, H- adductor pollicis obliquus, I- abductor digitimi mini. Lacourpaille et al., (2012).

Cette étude a mis en évidence des valeurs de répétabilité et de reproductibilité satisfaisantes avec un coefficient de variation (CV) allant de 4,6% à 8% (selon le muscle étudié). L'accord inter-opérateur est plus faible avec un CV entre 3,5% et 11,5% (figure 20). Cette étude met en lumière la fidélité de la méthode SSI ainsi que son adaptabilité et sa rapidité d'utilisation (i.e., 9 muscles en 20 minutes). Une faible variabilité temporelle de la mesure (4 %) est à noter (i.e., variabilité au cours des 10 secondes d'enregistrement). L'origine de celle-ci n'est pas clairement définie mais elle pourrait notamment être liée aux légers mouvements de l'opérateur lors du maintien de la sonde (Lacourpaille et al., 2012).

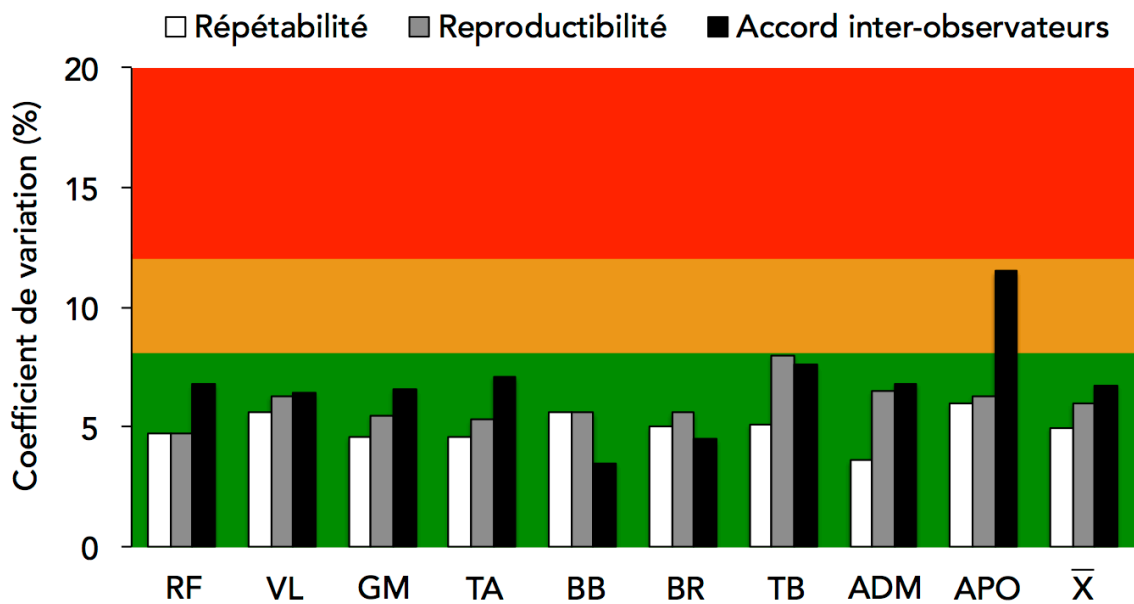


Figure 20: Fidélité des mesures pour les différents muscles et conditions d'étude. Coefficient de variation (%) obtenu en condition répétabilité, reproductibilité et accord inter-opérateurs. La fidélité de la mesure est considérée comme bonne, moyenne et faible lorsque les coefficients de variations sont situés entre 0 et 8%, 8 et 12%, et supérieurs à 12%, respectivement. rectus femoris, RF ; vastus lateralis, VL ; gastrocnemius medialis, GM ; tibialis anterior, TA ; biceps brachii, BB ; triceps brachii, TB ; brachioradialis, BR ; abductor digitimi mini, ADM ; adductor pollicis obliquus, APO ; \bar{X} , moyenne de tous les muscles pour chacune des conditions.

Une fois cette étape méthodologique « franchie », plusieurs équipes de recherche ont évalué le potentiel de cette méthode pour quantifier la tension passive au sein du muscle (Maïsetti et al., 2012 ; Koo et al., 2013, 2014 ; Loeng et al., 2013). Dans cette perspective, Maïsetti et al., (2012) ont établi *in vivo* la relation entre la tension passive du GM [estimée à partir de la méthode de Hoang et al., (2005)] et son module d'élasticité mesuré par SSI ($0,994 < R^2 < 0,999$). La *slack length*⁸ du GM a donc pu être déterminée précisément ($20 \pm 4^\circ$ en flexion plantaire : 0° représentant le pied perpendiculaire à la jambe). Ces résultats ont ensuite été confirmés *ex vivo* par Koo et al. (2013) avec une relation linéaire presque parfaite observée ($0,971 < R^2 < 0,999$) entre la charge appliquée au muscle (allant de 0 à 400g avec incrément de 25g) et le module d'élasticité.

Ces résultats représentent une avancée considérable dans le domaine de la modélisation biomécanique car ce paramètre fonctionnel est à ce jour particulièrement

⁸ Plus petite longueur à laquelle le système musculo-tendineux commence à développer une force élastique passive.

difficile à estimer *in vivo* (Garner et Pandey, 2003), et est considéré comme crucial au sein de ces modèles (Ackland et al., 2012).

Conclusion

La raideur du système musculo-tendineux joue un rôle déterminant dans le stockage et la restitution d'énergie potentielle (Cavagna, 1977 ; Bosco et al., 1982). Grâce à l'élastographie, l'évaluation des propriétés mécaniques d'un muscle cible au repos est devenu possible et de nombreuses méthodes ont émergé. La dernière en date, nommée *Supersonic Shear Imaging* permet de s'affranchir des limites des précédentes méthodes d'élastographie impulsionnelle. Elle dénote d'ailleurs d'une bonne fidélité (Lacourpaille et al., 2012) et constitue une excellente méthode d'évaluation de la tension passive musculaire (Maisetti et al., 2012 ; Koo et al., 2013). De fait, en considérant ces informations, les avantages cliniques de cette méthode et le phénotype lésionnel/fonctionnel de la DMD présenté en partie I.2 et I.3, l'évaluation de la sensibilité de cette méthode aux modifications musculaires induites par la DMD semble particulièrement pertinente. Si cette pertinence se vérifie, au delà d'une meilleure compréhension de la maladie, cette méthode devrait renseigner sur la contribution des différents muscles à l'immobilisation des articulations et donc potentiellement orienter la prise en charge du patient (e.g., prescription plus ou moins précoce d'orthèse, de soins kinésithérapiques). À plus long terme, et si cette méthode d'évaluation s'avère discriminante, elle pourrait être utilisée pour évaluer l'efficacité d'un traitement local (i.e., évaluation du muscle cible et de la propagation aux muscles adjacents) ou généralisé (i.e., répétition des mesures sur différents muscles) administré à des patients.

OBJECTIFS

La dystrophie musculaire de Duchenne est une dystrophinopathie induisant la non-expression de la protéine dystrophine dans l'organisme. Les études menées sur la souris *mdx* ont révélé une altération des processus électrochimiques (couplage E-C, Woods et al., 2005) et mécaniques (raideur musculaire et transmission de la force, Berquin et al., 1994 ; Ramaswamy et al., 2011) impliqués dans la contraction musculaire. Toutefois, aucune étude n'a caractérisé ces processus chez des patients atteints de la DMD. En effet, les études conduites chez l'Homme *in vivo* ont principalement mesuré la force musculaire (Wokke et al., 2014) et la raideur musculo-tendineuse et musculo-articulaire des patients (Cornu et al., 1998, 2001). Compte tenu de sa sensibilité, mais aussi de sa « facilité » d'évaluation et de la diversité des méthodes d'investigations existantes, la force musculaire est le paramètre fonctionnel le plus fréquemment utilisé pour suivre l'évolution de la maladie ou pour quantifier l'effet de traitements (Escolar et al., 2011). Bien qu'elle soit corrélée à l'autonomie des patients (Uchikawa et al., 2004), cette mesure reste intimement liée à l'investissement du patient et à sa capacité d'activation maximale (Piotrkiewicz *et al.*, 1993). En outre, elle ne permet ni d'identifier le ou les muscle(s), ni le ou le(s) structure/mécanisme(s) à l'origine d'un changement de la capacité de production de force.

L'étude du DEM par échographie ultrarapide (Nordez et al., 2009) et l'élastographie SSI (Bercoff et al., 2004) permettent d'étudier des phénomènes qui étaient auparavant difficilement observables *in vivo*. Il est désormais possible d'identifier précisément le début de mouvement des fascicules musculaires et de l'insertion myotendineuse suite à une stimulation électrique musculaire (Nordez et al., 2009). En caractérisant conjointement le début d'activité électrique, de mouvement des tissus (i.e., muscle et tendon), et de production de force, il est possible d'estimer le temps nécessaire aux processus électrochimiques (principalement la transmission synaptique et le couplage excitation-contraction), et mécaniques (transmission de la force le long de l'aponévrose et du tendon) impliqués dans le DEM (Nordez et al., 2009). De même, la méthode SSI permet de s'affranchir des limites inhérentes aux précédentes méthodes d'évaluation de la raideur musculo-articulaire (i.e., protocole expérimental fastidieux, mesures globales) en quantifiant la raideur d'un muscle cible en temps réel (Lacourpaille et al., 2012). La caractérisation non-invasive des processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans le DEM et la quantification de la raideur musculaire chez des patients atteints de la DMD permettraient de décrire les effets de la maladie sur les propriétés contractiles et élastiques impliqués dans la contraction musculaire chez l'Homme. Dans l'optique de mieux comprendre l'évolution de la maladie, et d'améliorer

le suivi et la prise en charge des patients, ces techniques pourraient apporter des informations complémentaires à celles fournies par la force maximale volontaire. À plus long terme, elles pourraient, si elles s'avèrent suffisamment sensibles, être utilisées pour évaluer l'efficacité d'un traitement local ou généralisé.

Les objectifs de mes travaux de thèse s'articulent en deux volets : *i)* le développement de la technique d'évaluation du délai électromécanique par échographie ultrarapide chez des sujets sains, et *ii)* l'évaluation des propriétés musculaires contractiles et élastiques chez des patients atteints de la DMD. Chacun de ces volets a été décliné en deux études.

Volet 1 : Développement de la technique d'évaluation du délai électromécanique par échographie ultrarapide chez des sujets sains.

Le premier objectif était de déterminer l'influence de la longueur musculaire sur les composantes électrochimiques et mécaniques du DEM. Celle-ci a été établie en déterminant à différentes longueurs du muscle, le DEM par échographie ultrarapide et sa raideur (**étude #1**).

Le second objectif fût d'optimiser le protocole qui allait être réalisé sur les patients atteints de la DMD. Plus précisément, il consistait à documenter l'influence de l'intensité de la stimulation électrique sur le DEM et ses composantes, et à quantifier la reproductibilité de cette méthodologie (**étude #2**).

Volet 2 : Évaluation des propriétés contractiles et élastiques chez des patients atteints de la DMD.

Le premier objectif de ce volet était de quantifier l'effet de la DMD sur les processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans le DEM. Pour ce faire, nous avons mesuré le DEM du *biceps brachii* par échographie ultrarapide chez des patients atteints de la DMD et des sujets sains (**étude #3**).

Le deuxième objectif était de quantifier l'effet de la DMD sur les propriétés élastiques musculaires. Plus précisément, la raideur de six muscles a été évaluée par la technique d'élastographie SSI chez des patients atteints de la DMD et des sujets sains (**étude #4**).

L'ensemble de ces études a été soutenu par l'Association Française contre les Myopathies (n°14597), le Fond Européen de Développement Régional (n°37400), et la région Pays de la Loire.

CHAPITRE II

MATÉRIELS & MÉTHODE

Ce chapitre fait état de la méthodologie commune aux expérimentations menées dans le cadre de ce travail de thèse. Une section « Matériels et Méthodes » contenant l'ensemble des informations spécifiques apparaît dans le résumé de chaque étude (*cf.* Chapitre 4 - Contributions expérimentales). L'intégralité des expérimentations conduites dans le cadre de cette thèse a été approuvée par le Comité de Protection des Personnes (CPP) Nantes Ouest IV (n° d'enregistrement : CPP-MIP-004).

Les études #1 et #2 ont été réalisées sur des sujets sains (contrôles) au sein du laboratoire « Motricité, Interactions, Performance » de l'UFR STAPS de Nantes. Les études #3 et #4, conduites chez des patients atteints de la DMD et sujets sains (contrôles), se sont déroulées au service d'explorations fonctionnelles du Centre Hospitalier Universitaire - Nord Laennec (Saint-Herblain).

2.1 Outils de mesure et variables étudiées

2.1.1 Force et couple

La force produite par la stimulation électrique du *biceps brachii* a été mesurée par un capteur de force (SML-50, Interface, Arizona, USA ; gamme de force : 0-225 N, sensibilité : 2 mV/V, précision : $\pm 0,05$ %) et numérisée à une fréquence de 5000 Hz (MP36, BIOPAC, Golet, California) (études #1, #2 et #3). Le capteur de force était fixé à l'accessoire de l'ergomètre segmentaire (Biodex 3 medical, Shirley, NY) (figure 21) (études #1 et #2) ou à un plateau canadien (étude #3). Comme schématisé sur la figure 21, les sujets étaient assis sur le siège de l'ergomètre, le coude droit en abduction à 90° et supporté par un accessoire. En utilisant les différents réglages du siège (hauteur, profondeur, position) et du dynamomètre (hauteur, rotation, et position), l'axe de rotation supposé du coude était aligné avec l'axe de rotation du dynamomètre (études #1 et #2). Une fois le sujet correctement positionné, il était sanglé au siège (au niveau de la ceinture et du torse). L'angle articulaire du coude était placé entre 70° et 180° d'extension (180° représentant l'extension complète de l'avant bras) pour l'étude #1 et à 90° pour l'étude #2. La styloïde radiale était systématiquement solidarisée au capteur de force *via* une sangle Velcro afin d'assurer d'un contact constant entre les deux interfaces (*nb.* l'absence de contact pouvant conduire à une surestimation du délai électromécanique).

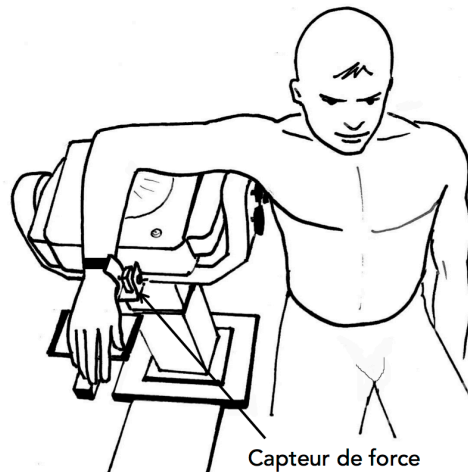


Figure 21: Schématisation du positionnement du sujet et du capteur de force lors des études #1 et #2. Les sujets étaient assis, le coude droit en abduction à 90° et soutenu par l'accessoire de l'ergomètre (non visible sur le schéma). L'angle articulaire du coude était géré électroniquement par le dynamomètre (ici 90°), et le poignet solidarisé au capteur de force via une bande Velcro. Études #1 et #2.

L'étude #3, conduite à l'hôpital Nord-Laennec, a nécessité le développement d'un ergomètre transportable. Pour mesurer le DEM, nous avons utilisé un plateau canadien sur lequel nous avons fixé des sangles, des mousses, ainsi que le capteur de force et la bande Velcro utilisés lors des études #1 et #2. Un goniomètre manuel a été utilisé pour vérifier les angles articulaires au cours des études #3 et #4.

L'étude #1 a requis l'utilisation du mode isocinétique passif du dynamomètre afin d'imposer un étirement à vitesse constante.

2.1.2 Électromyographie de surface

Afin d'objectiver le « relâchement musculaire » des sujets au cours des étirements passifs isocinétiques réalisés lors de l'étude #1, les signaux EMG de surface ont été recueillis (configuration bipolaire). Les signaux EMG des muscles d'intérêts ont été amplifiés ($\times 1000$), filtrés (bande passante : 6 à 400 Hz) et échantillonnés à 1000 Hz (Bagnoli 16, Delsys Inc, Boston, USA). Préalablement à la pose des électrodes EMG, la peau a été rasée puis nettoyée avec un mélange éther-alcool-acétone afin de réduire l'impédance peau-électrode (étude #1). Ensuite les électrodes EMG réceptrices ont été placées et l'électrode de référence positionnée au niveau de l'épicondyle latéral de l'humérus.

2.1.3 Electromyostimulation

Le DEM du *biceps brachii* a été étudié lors de contractions évoquées électriquement (études #1, #2 et #3). Un stimulateur électrique (Digitimer DS7A, Digitimer, Letchworth Garden City, UK) a été configuré pour délivrer des impulsions électriques rectangulaires (400V), d'une durée de 200 μ s (étude #3) (Nordez et al., 2009) et 500 μ s (études #1 et #2) (Sasaki et al., 2011). Le principal point moteur du *biceps brachii* a été identifié en plaçant l'anode ($2 \times 1,5$ cm, Compex, Annecy-le-vieux, France) en amont de la jonction myotendineuse et en stimulant à faible intensité différentes zones du muscle par l'intermédiaire d'un stylet (Compex, Annecy-le-vieux, France) (Nordez et al., 2009 ; Hug et al., 2011b). Le point moteur était considéré comme la région du muscle induisant la plus grande réponse mécanique pour une intensité de stimulation donnée (typiquement entre 6 et 8 mA) (Nordez et al., 2009 ; Hug et al., 2011b). Une fois la cathode ($2 \times 1,5$ cm) placée sur le point moteur, une bande adhésive fixait chacune des électrodes sur la peau afin d'assurer un contact constant tout au long du protocole. L'intensité maximale de stimulation (I_{max}) était déterminée au cours d'une rampe progressive de stimulation. La rampe progressive consistait à incrémenter progressivement (5 mA) l'intensité de la stimulation électrique jusqu'à observer un plateau de la force musculaire produite. L'intensité de stimulation minimale générant la production de force maximale était considérée comme l' I_{max} .

2.1.4 Module d'élasticité de cisaillement

Le module d'élasticité de cisaillement a été mesuré par la technique Supersonic Shear Imaging (SSI, Bercoff et al., 2004), présentée en détail précédemment section 1.3.4 Le mode *Shear Wave Elastography* fournit une cartographie d'élasticité en 2 dimensions de la zone d'intérêt (figure 22). Celle-ci, superposée à l'image échographique standard (mode B), renseigne en temps réel sur la raideur du tissu grâce à un code couleur. La résolution spatiale de la mesure est de 1×1 mm et la taille de la zone d'intérêt est plus ou moins ajustable selon les modes. La résolution temporelle est de 1 Hz permettant d'obtenir une mesure de raideur à chaque seconde.

La valeur de module mesurée est susceptible d'être modifiée par certains réglages réalisés au moment de l'acquisition. En effet, il est possible d'enregistrer une image à un instant t ou bien de réaliser une séquence vidéo. Les pré-expérimentations conduites dans le cadre de mon master 2 nous ont permis de constater que le moyennage sur 10 secondes d'enregistrement permettait d'améliorer nettement la fidélité de la mesure comparativement à

une mesure unique (Lacourpaille et al., 2012). Ensuite, le lissage temporel (paramètre « *persistance* ») proposé sur l'appareil permet de limiter les variations de raideur (i.e., pondération de la raideur à un instant t par les valeurs précédentes). Si ce paramètre est particulièrement approprié à l'étude de la raideur musculaire en condition de repos, il est en revanche à éviter lorsque l'on s'intéresse à des conditions dynamiques (i.e., lorsque le module change au cours du temps). Par conséquent, une persistance « *off* » a été utilisée pour l'étude #1 tandis que l'étude #4 a été réalisée en persistance « *moyenne* » (Lacourpaille et al., 2012). De même, un lissage spatial existe sur l'appareil (« *lissage* », niveau 1 à 5). L'ajustement de ces « filtres » (temporel et spatial) permet de réduire le « bruit » inhérent à la mesure.

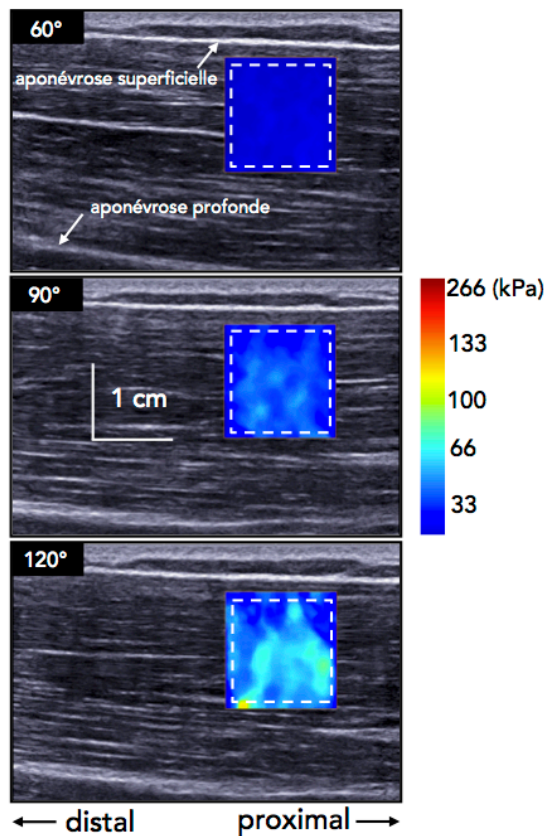


Figure 22: Exemples de cartes d'élasticité du biceps brachii obtenues à 3 angles articulaires. Augmentation progressive de la raideur du biceps brachii au cours de l'étirement passif (i.e., 60°, 90°, 120° d'extension du coude ; 180° représentant l'extension complète du coude), objectivée qualitativement (sur l'image) via le code couleur (bleu marine = raideur faible ; jaune/rouge = raideur élevée). La partie de la carte analysée par le logiciel est matérialisée par la zone pointillée rectangulaire blanche. Étude #1.

2.1.5 Échographie ultrarapide

Les études #1, #2, et #3 s'appuyaient sur l'échographie ultrarapide pour quantifier la contribution relative des processus électrochimiques et mécaniques dans le DEM du *biceps*

brachii. Pour ce faire, l'échographe Aixplorer a été utilisé en mode «*échographie ultrarapide*» (4000 Hz). La dissociation de la composante mécanique aponévrotique et tendineuse lors des études #1 et #2 nécessitait d'acquérir les images échographiques du muscle (i.e., essai «*Muscle*») et de la jonction myotendineuse (i.e., essai «*Tendon*») *via* deux acquisitions séparées (figure 23).

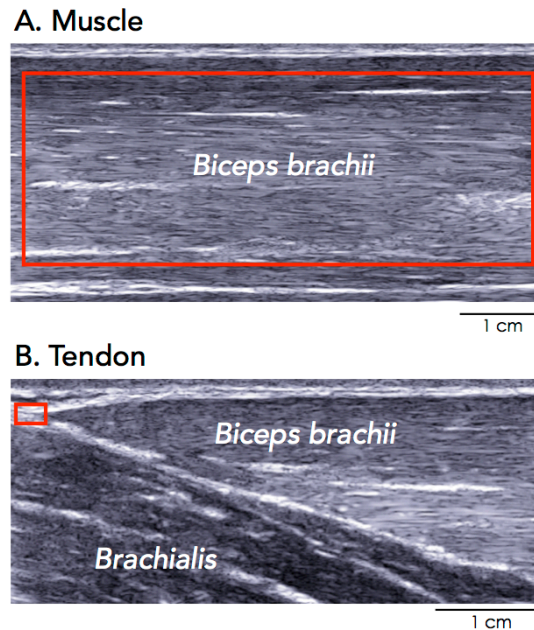


Figure 23: Images échographiques typiques du ventre musculaire (A) et de la jonction myotendineuse (B) obtenues à 4000 Hz. Images mode B typiques d'un essai Muscle (A) et Tendon (B) obtenues en mode échographie ultrarapide. La délimitation rectangulaire rouge représente la zone d'intérêt utilisée pour calculer la vitesse des particules de chacun des essais (A. ventre du muscle ; B. jonction myotendineuse). Étude #2.

Compte tenu de la localisation de l'aponévrose inférieure du *biceps brachii* (3-4 cm de profondeur), la fréquence ultrasonore sélectionnée lors des essais «*Muscle*» était généralement de 7,5 MHz. La localisation superficielle de la jonction myotendineuse du *biceps brachii* permettait d'augmenter la fréquence ultrasonore de la sonde à 9 MHz lors des essais «*Tendon*».

2.2 Analyse des données

L'intégralité des données a été analysée grâce au logiciel Matlab[®] (Mathworks, Natick, USA), à l'exception des données de l'étude #4 qui ont été analysées *via* le logiciel de l'Aixplorer (QBox[®]) (Lacourpaille et al., 2012).

2.2.1 Couple et force

La force maximale produite en réponse à la stimulation électrique musculaire a été quantifiée en soustrayant la valeur moyenne de la ligne de base lors des 50 millisecondes précédant la stimulation électrique, à la valeur maximale atteinte lors de la secousse (études #2 et #3). La longueur de l'avant bras a été mesurée lors de l'étude #4 afin de calculer le couple de force développé par le *biceps brachii*.

2.2.2 Amplitude du signal EMG

L'analyse de l'amplitude du signal EMG au cours des cycles d'étirements passifs a été effectuée conformément à la méthodologie proposée par Gajdosik et al. (2005). Plus précisément, la Root Mean Square (EMG RMS) a été calculée (fenêtre de 2 secondes) et exprimé en fonction de la valeur maximale mesurée lors d'une contraction maximale volontaire réalisée à la fin du protocole (étude #1). Lorsque cette valeur était supérieur à 1 %, l'essai réalisé était considéré comme non-exploitable (McNair et al., 2001, 2002 ; Nordez et al., 2008a).

2.2.3 Module d'élasticité de cisaillement

Le traitement des données d'élasticité de l'étude #1 a été effectué selon la procédure suivante. Dans un premier temps, les clips vidéos ont été exportés au format « .mp4 » puis converties en images (« .jpeg ») via un script Matlab. Ensuite, pour chaque vidéo la zone d'intérêt la plus large possible. Les dimensions de cette zone étaient ajustées selon la taille du muscle étudié et la présence d'aponévroses ou fascias sur l'image échographique. Une valeur moyenne d'élasticité de la zone d'intérêt était donc calculée chaque seconde. Il est à noter que lorsqu'un point dans l'image atteignait la limite de saturation (i.e., égal à la valeur maximale d'élasticité) la carte d'élasticité n'était pas considérée dans les analyses.

Concernant l'étude #4, réalisée en condition statique, l'analyse des données a été effectuée grâce au logiciel QBox de l'Aixplorer ne permettant qu'une délimitation circulaire de la zone d'intérêt (figure 24). La valeur moyenne de chaque essai correspondait donc au moyennage sur 10 secondes de la zone d'intérêt.

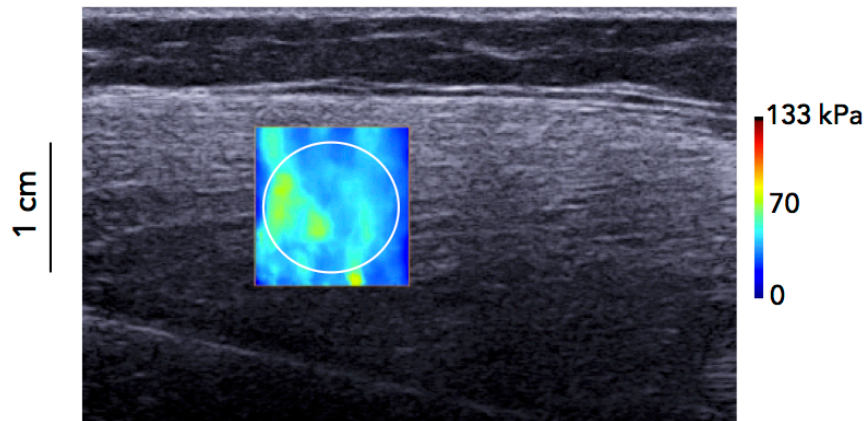


Figure 24: Cartographie d'élasticité et zone d'intérêt du gastrocnemius medialis d'un patient atteint de DMD. Le cercle blanc représente la zone d'intérêt utilisée pour calculer le module d'élasticité de cette cartographie ($\approx 314 \text{ mm}^2$). Étude #4.

2.2.4 Signaux ultrasonores

Les signaux ultrasonores bruts (radiofréquence) provenant des acquisitions hautes fréquences réalisées sur le muscle et la jonction myotendineuse ont été analysés selon la méthodologie décrite par Deffieux et al. (2006, 2008). Tout d'abord, les signaux bruts ont été convertis en images échographiques *via* un processus de *beamforming* conventionnel, c'est à dire en appliquant la loi des retards (considération des vitesses de propagation des ultrasons). Les images échographiques formées ont été utilisées pour déterminer la zone d'intérêt (*cf.* fig. 24). Ensuite, un traitement visant à « parceller » les images en fenêtre de $1,5 \text{ mm}^2$ a été appliqué. Une *cross correlation* à 1 dimension a été appliquée suivant la direction perpendiculaire à l'axe principal de la sonde et du muscle (Catheline et al., 1999). Chaque fenêtre des images consécutives a ensuite été comparée et les déplacements le long de l'axe de propagation des ultrasons déterminés. Ainsi, la vitesse des particules (mouvement entre deux images consécutives) a été estimée avec une précision micrométrique (Ophir et al., 1991). En effet, puisque nous considérons le muscle comme un matériau incompressible (Fung, 1993) et isovolumique au cours de la contraction musculaire (Kardel, 1990), les déplacements longitudinaux et perpendiculaires du muscle sont directement liés. Ce schéma est applicable à la jonction myotendineuse, puisque son mouvement possède également une composante verticale (Maganaris et Paul, 2002).

2.2.5 Détection des débuts de mouvement et de production de force

Pour l'ensemble des signaux recueillis, la détermination du début de mouvement a été effectuée visuellement. En effet, même si cette méthode reste subjective, elle est fidèle et moins affectée par la qualité des signaux que les méthodes de détections automatiques (Hodges & Bui, 1996). Nous avons toutefois tenté lors des études #1 et #2 de déterminer les débuts de production de force et de mouvement des structures musculaires et tendineuses par une méthode automatique (Fortier et al., 2005 ; Nordez et al., 2009). À partir de la dérivée du signal (force et déplacements), nous avons déterminé automatiquement le début « d'activité » comme le dernier point négatif de l'accélération du signal (Fortier et al., 2005 ; Nordez et al., 2009). Cette détermination était ensuite validée par un opérateur. La correction presque systématique par l'opérateur ($\approx 50\%$ dans l'étude #2) nous a fait choisir la méthode de détection visuelle (figure 25).

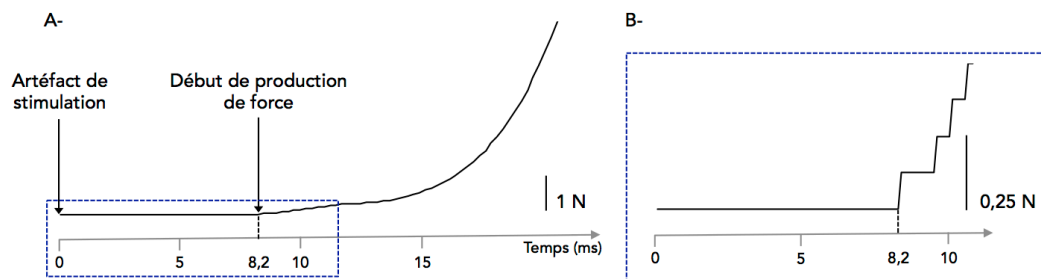


Figure 25: Détermination visuelle du début de production de force. A- Délai entre le début de l'artéfact de stimulation électrique et le début de production de force. Le début de production de force a été déterminé à partir d'un zoom sur le signal de force (B-). Nous pouvons d'ailleurs observer un signal de force en « escalier » (B-) traduisant son « sur-échantillonnage » (5000 Hz). Étude #2.

Par ailleurs, alors que certaines études considèrent le début d'activité électrique du muscle comme le début de l'onde M recueillie par EMG (Grosset et al., 2009 ; Hopkins et al., 2007 ; Zhou et al., 1995), nous avons choisi d'utiliser l'artéfact de stimulation (Chen et al., 2009, Muraoka et al., 2004). Il faut d'une part, noter que la vitesse de propagation des potentiels d'action le long du muscle est de $\approx 4 \text{ m.s}^{-1}$ (Moritani et al., 2004), et d'autre part, que le début de production de force est la conséquence du raccourcissement des premières fibres activées (à proximité du point moteur). Une distance de 4 cm entre celles-ci et

l'électrode EMG provoquera donc une détection du début d'activité électrique du muscle décalée de 10 ms. Par conséquent, il nous semble préférable de considérer le début d'activité électrique du muscle comme le début de l'artéfact de stimulation.

2.3 Analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel « *Statistica* » (v 7.0 ; StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA). Les données sont présentées sous la forme « moyenne \pm écart type » dans le texte, les tableaux et les figures. Dans un premier temps, la normalité des données a été testée grâce à un test de Kolmogorov-Smirnov. Une procédure de *post-hoc* de était utilisée lorsque l'ANOVA indiquait un effet significatif. Pour chaque procédure de test statistique, le niveau de significativité a été fixé à $P < 0,05$.

Compte tenu des données manquantes dans l'étude #4 nous avons caractérisé l'effet taille (Guéguen, 2011). Nous avons calculé le d de Cohen à partir de l'équation suivante (Cohen, 1988) (eq. 5):

$$d = \frac{\bar{x}_t - \bar{x}_c}{\sqrt{\frac{(n_t - 1)s_t^2 + (n_c - 1)s_c^2}{n_t + n_c}}} \quad \text{Eq. 5}$$

où les deux échantillons sont notés t (testé) et c (contrôle), \bar{x} est la moyenne, n l'échantillon, et s^2 l'écart type.

CHAPITRE III

CONTRIBUTIONS EXPÉRIMENTALES

ÉTUDE #1

Influence de la tension passive sur le délai électromécanique

Publication associée

Lacourpaille L., Hug F., & Nordez A. (2013)

INFLUENCE OF PASSIVE MUSCLE TENSION ON ELECTROCHEMICAL DELAY IN HUMANS.

PLOS ONE, 8(1):e53159.

INTRODUCTION

Le délai électromécanique (DEM) représente le délai entre le début d'activité électrique d'un muscle et le début de sa réponse mécanique (Cavanagh et Komi, 1979). Le DEM est influencé par des processus électrochimiques (e.g., transmission synaptique, couplage excitation-contraction) et mécaniques [e.g., étirement de la composante élastique série active (CES_1) et passive (CES_2)] (Cavanagh et Komi, 1979). La contribution relative de ces structures et mécanismes impliqués dans le DEM a été quantifiée par échographie ultrarapide sur le *gastrocnemius medialis* (GM) (Nordez et al., 2009). En identifiant le délai entre l'artefact de stimulation électrique et *i*) le début de mouvement des fascicules musculaires (Dm), *ii*) le début de mouvement de l'insertion myotendineuse (i.e., extrémité proximale du tendon) (Dt), et *iii*) le début de production de la force (DEM), le DEM a pu être fragmenté en une composante électro-chimique (Dm) et une composante mécanique (Dt). En utilisant la même technique, Hug et al. (2011b) ont montré que la segmentation du DEM est différente sur le *biceps brachii* (BB) (Hug et al., 2011b). Plus précisément, si dans le cas du GM la transmission de la force des fascicules musculaires à la jonction myotendineuse nécessite $2,37 \pm 1,30$ ms, celle-ci est instantanée sur le BB. Deux principales hypothèses ont été avancées : la différence d'architecture (penné vs. fusiforme) et la différence de tension passive. Plus précisément, l'angle articulaire utilisé dans l'étude de Nordez et al., (2009) induisait une longueur musculaire du GM supérieure à celle observée à la *slack length* (i.e., longueur au-delà de laquelle le système musculo-tendineux commence à développer une force élastique passive) (Muraoka et al., 2004 ; Hoang et al., 2007 ; Maïsetti et al., 2012). *A contrario*, l'étude de Hug et al. (2011b) était, *a priori*, réalisé à une longueur inférieure à la *slack length* (i.e., 90° de flexion du coude) (Garner et Pandy, 2003). Dans cette dernière configuration, des déplacements de type solide-rigide devraient être générés dans tout le muscle, ce qui pourrait expliquer la survenue concomitante des débuts de mouvement de la jonction myotendineuse et des fascicules musculaires.

Plusieurs études ont rapporté une modification du DEM subséquente à des modifications de la longueur du muscle (Muraoka et al., 2004 ; Sasaki et al., 2011). Plus précisément, lorsque le muscle est placé à des longueurs musculaires faibles (i.e., inférieures à la *slack length*), son étirement progressif réduit le temps nécessaire à mettre en tension la CES. En revanche, au delà de la *slack length*, la transmission de la force semble être indépendante de la longueur musculaire (Sasaki et al., 2011). Toutefois, aucune étude n'a déterminé conjointement la *slack length* et les processus impliqués dans le DEM.

Cette étude avait deux objectifs. Le premier était de déterminer expérimentalement l'angle du coude correspondant à la *slack length* des deux chefs du BB à partir de la technique Supersonic Shear Imaging (SSI). Le second était de documenter le délai entre le début de mouvement des fascicules et de la jonction myotendineuse du BB aux différents angles articulaires. Considérant leur insertion proximale différente, nous supposons une *slack length* des deux portions du BB différente. En outre, nous supposons qu'aux longueurs musculaires inférieures à la *slack length* le début de mouvement du muscle et du tendon était concomitant (i.e., transmission de force instantanée, $D_m = D_t$) et qu'au contraire, au delà de la *slack length*, un délai temporel était observé entre ces deux évènements ($D_m < D_t$).

MATÉRIELS & MÉTHODE

12 sujets ont participé à cette étude ($21,8 \pm 2,3$ ans; $180,5 \pm 3,6$ cm; $76,0 \pm 6,1$ kg). Le protocole s'est déroulé en deux parties. La première visait à déterminer l'angle articulaire correspondant à la longueur musculaire à la *slack length* de chacune des portions du BB (i.e., longue et courte portion). Préalablement, les sujets ont réalisé un conditionnement consistant en cinq cycles d'étirements passifs (i.e., charge et décharge) à $10^\circ \cdot s^{-1}$ entre 120° et 20° de flexion du coude (0° de flexion correspondant à l'extension complète du coude). La sonde échographique a ensuite été placée sur une des deux portions du BB (dans un ordre randomisé), afin de mesurer le module d'élasticité de cisaillement au cours d'un cycle passif, réalisés à $2^\circ \cdot s^{-1}$ sur l'amplitude 120° - 20° .

La seconde partie du protocole consistait à évaluer le DEM sur la même plage angulaire que lors des cycles d'étirements. Après un conditionnement identique à celui décrit ci-dessus, deux stimulations électriques musculaires maximales du BB ont été appliquées (nommées : *essai muscle* lorsque la sonde échographique était placée sur le BB et *essai tendon* lorsque celle-ci se trouvait au niveau de la jonction myotendineuse) à 11 angles articulaires différents (dans un ordre aléatoire), i.e., incréments de 10° entre 20° et 120° de flexion du coude (1 minute de repos entre chaque mesure).

RÉSULTATS

Comme précédemment observée sur le GM, l'allure de la relation module d'élasticité de cisaillement - angle articulaire était exponentielle (Maïsetti et al., 2012 ; Hug et al., 2013). L'angle du coude correspondant à la *slack length* n'était pas significativement différent entre

les deux chefs du BB ($95,5 \pm 6,3^\circ$ et $95,3 \pm 8,2^\circ$ pour la longue et la courte portion, respectivement ; $P=0,99$). Malgré une insertion proximale différente, les deux portions semblaient adopter un comportement similaire lors de l'étirement.

Contrairement à l'hypothèse formulée, Dm et Dt étaient indépendants de l'angle articulaire ($P=0,96$; figure 26). En effet, indépendamment de la longueur musculaire, le début de mouvement du muscle et du tendon était toujours concomitant (i.e., $Dm = Dt$) [$3,9 \pm 0,2$ ms et $3,7 \pm 0,3$ ms pour le début de mouvement des fascicules (Dm) et de la jonction myotendineuse (Dt), respectivement)].

En outre, nos résultats confirment ceux de Sasaki et al. (2011) puisque nous démontrons qu'en amont de la *slack length* (i.e., angles supérieurs à $\approx 95^\circ$; absence de tension passive), les variations de longueurs musculaires influencent la transmission de la force globale [DEM significativement plus long à 120° ($P<0.001$), 110° ($P<0.001$) et 100° ($P=0.01$) qu'à 90°], tandis qu'en aval (i.e., angles inférieurs à $\approx 95^\circ$), celle-ci reste constante, indépendante de l'angle articulaire.

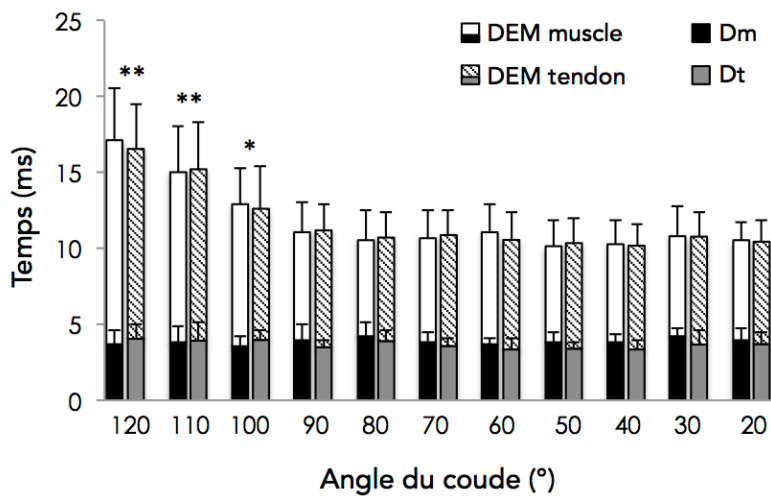


Figure 26: Effet de l'angle articulaire sur le DEM, Dm et Dt. Pour chaque angle articulaire le délai électromécanique (DEM), le début de mouvement des fascicules (Dm) et le début de mouvement de la jonction myotendineuse (Dt) ont été déterminés au cours d'une contraction musculaire du BB électriquement évoquée. Deux histogrammes apparaissent pour le même angle articulaire (DEM muscle et tendon). Ceux-ci correspondent aux essais réalisés avec la sonde sur le muscle ou sur le jonction myotendineuse, nommés «DEM muscle » et « DEM tendon », respectivement. Dm et Dt sont symbolisés par les histogrammes noirs et gris, respectivement. *: $P<0.05$ et **: $P<0.001$: DEM significativement différent de l'angle articulaire 90° .

CONCLUSION

À partir d'une approche basée sur l'échographie ultrarapide et l'élastographie, cette étude a révélé que la différence de délai entre le début de mouvement des fascicules musculaire et de l'insertion myotendineuse suite à une stimulation électrique observée entre le GM et le BB n'était pas liée à une différence de tension passive. D'autre part, ces expérimentations ont permis de démontrer qu'aux longueurs musculaires inférieures à la *slack length*, la longueur musculaire influence le temps nécessaire pour mettre en tension la CES (T_m). *A contrario*, à partir de la longueur musculaire correspondante à la *slack length*, et au delà, le délai entre le début de mouvement du tendon et le début de production de force est indépendant de l'angle articulaire et minimal (i.e., transmission de force la plus rapide).

Influence of Passive Muscle Tension on Electromechanical Delay in Humans

Lilian Lacourpaille, François Hug*, Antoine Nordez

University of Nantes, Laboratory "Motricité, Interactions, Performance" (EA 4334), Nantes, France

Abstract

Background: Electromechanical delay is the time lag between onsets of muscle activation and muscle force production and reflects both electro-chemical processes and mechanical processes. The aims of the present study were two-fold: to experimentally determine the slack length of each head of the biceps brachii using elastography and to determine the influence of the length of biceps brachii on electromechanical delay and its electro-chemical/mechanical processes using very high frame rate ultrasound.

Methods/Results: First, 12 participants performed two passive stretches to evaluate the change in passive tension for each head of the biceps brachii. Then, they underwent two electrically evoked contractions from 120 to 20° of elbow flexion (0°: full extension), with the echographic probe maintained over the muscle belly and the myotendinous junction of biceps brachii. The slack length was found to occur at $95.5 \pm 6.3^\circ$ and $95.3 \pm 8.2^\circ$ of the elbow joint angle for the long and short heads of the biceps brachii, respectively. The electromechanical delay was significantly longer at 120° (16.9 ± 3.1 ms; $p < 0.001$), 110° (15.0 ± 3.1 ms; $p < 0.001$) and 100° (12.7 ± 2.5 ms; $p = 0.01$) of elbow joint angle compared to 90° (11.1 ± 1.7 ms). However, the delay between the onset of electrical stimulation and the onset of both muscle fascicles (3.9 ± 0.2 ms) and myotendinous junction (3.7 ± 0.3 ms) motion was not significantly affected by the joint angle ($p > 0.95$).

Conclusion: In contrast to previous observations on gastrocnemius medialis, the onset of muscle motion and the onset of myotendinous junction motion occurred simultaneously regardless of the length of the biceps brachii. That suggests that the between-muscles differences reported in the literature cannot be explained by different muscle passive tension but instead may be attributable to muscle architectural differences.

Citation: Lacourpaille L, Hug F, Nordez A (2013) Influence of Passive Muscle Tension on Electromechanical Delay in Humans. PLoS ONE 8(1): e53159. doi:10.1371/journal.pone.0053159

Editor: Christof Markus Aegerter, University of Zurich, Switzerland

Received: September 15, 2012; **Accepted:** November 26, 2012; **Published:** January 4, 2013

Copyright: © 2013 Lacourpaille et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study was supported by grants from the European Regional Development Fund (ERDF, number 37400), the Association Française contre les Myopathies (AFM number 14597) and the Region des Pays de la Loire. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: francois.hug@univ-nantes.fr

Introduction

Electromechanical delay (EMD) is the time lag between onsets of muscle activation and muscle force production. It reflects both electro-chemical processes (i.e., synaptic transmission, propagation of the action potential, excitation-contraction coupling) as well as mechanical processes (i.e., force transmission along the active and the passive part of the series elastic component, SEC) [1]. The relative contributions of both electro-chemical and mechanical processes involved in EMD has recently been characterized on gastrocnemius medialis [2] and biceps brachii [3,4] using very high frame rate ultrasound. More precisely, the delay between the muscle electrical stimulation and the onset of muscle fascicles motion has been mainly attributed to electro-chemical processes and the delay between the onset of fascicles motion and the onset of both the myotendinous junction motion and the force production has been attributed to mechanical processes [2,3,4]. While the study of gastrocnemius medialis reported a delay of about 2.4 ms between the onset of muscle fascicles motion and the onset of myotendinous junction motion (i.e., the delay to transmit force along the aponeurosis) [2], fascicles and myotendinous

junction motion occurred concomitantly in biceps brachii [3,4]. As proposed by Hug et al. [3], this discrepancy could be explained by architectural differences between these two muscles (pennate vs. fusiform, [5]) and/or different levels of passive tension induced by the experimental setup. Indeed, the ankle joint angle (10° in plantar flexion) used in the study of Nordez et al. [2] induces slight passive muscle tension [6,7,8,9]. In contrast, in the study of Hug et al. [3] the biceps brachii muscle-tendon unit was likely to be slack (elbow joint = 90°) and thus did not produce any passive tension. In this latter case, one would expect a rigid body motion inducing a simultaneous displacement onset of the fascicles and myotendinous junction.

Some studies have reported significant changes in EMD through experimental manipulation of tension in the SEC [6,10,11]. More precisely, they showed that EMD is influenced by the time to stretch the SEC when the muscle-tendon unit length is shorter than the estimated slack length (defined here as the length from which the muscle begins to develop passive elastic force). In contrast, these earlier studies also showed that EMD is independent of the passive tension when the muscle-tendon unit is longer than the slack length. One of the main limitations of these

studies is that they arbitrarily determined the slack length (i.e., at 90° of elbow angle) [11], or determined it to be at the angle at which no passive joint moment was produced [6]. The utility of this last method is questionable, because the passive joint moment is associated with all structures that cross the joint (i.e., muscles, tendons, skin, articular structures) [12] whereas EMD is only associated with the muscle-tendon unit. Furthermore, none of these studies simultaneously recorded the onset of motion of muscle fascicles and myotendinous junction making them unable to attribute changes to electro-chemical and/or mechanical process. Thus, due to shortcomings in experimental techniques, the relationship between muscle passive tension and the mechanisms involved in EMD has never been investigated.

The aims of the present study were two-fold. First, we experimentally determined the slack length of each head of the biceps brachii using an ultrasound shear wave elastographic technique named supersonic shear imaging (SSI). The main advantage of this technique is that it can be used to accurately estimate passive tension and slack length of an individual muscle [8]. For instance, as biceps brachii is composed of two heads with different proximal insertions one would expect different passive tension within each head at a given joint angle. Secondly, we determined the influence of biceps brachii length on EMD and its mechanisms. We hypothesized that for a muscle-tendon unit length shorter than the measured slack length the onset of fascicle motion would not be different to the onset of myotendinous junction motion (i.e., transmission force as rigid body motion) [3]. For a muscle-tendon unit length longer than the slack length, we hypothesized that a significant delay should exist between the onset of fascicles motion and the onset of myotendinous junction motion, attributed to the time to transmit force along the aponeurosis, as previously shown in gastrocnemius medialis [2].

Materials and Methods

Participants

Twelve males volunteered to participate in the present study (age: 21.8 ± 2.3 years, height: 180.5 ± 3.6 cm, body mass: 76.0 ± 6.1 kg). Participants were informed of the purpose of the study and methods used before providing written consent. The experimental design of the study was approved by the Ethical Committee of Nantes Ouest IV and was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (last modified in 2004).

Instrumentation

Ergometer. Participants sat on an isokinetic dynamometer (Biodex System 3 Research, Biodex Medical, Shirley, USA) with their right shoulder abducted at 90° and with their wrist in a neutral position as described previously [4] (Fig. 1). The torso was strapped to the dynamometer chair to ensure that the participant's shoulder/trunk position did not change throughout the experiment.

Due to the lack of sensitivity of the isokinetic ergometer to precisely detect the onset of elbow flexion force, a force transducer (SML-50, range: 0–50 lbf, sensibility: 2 mV/V, Interface, Arizona, USA) was incorporated in the ergometer and connected with Velcro straps to the wrist to ensure constant contact (Fig. 1). Elbow flexion force was digitized at a sampling rate of 5 kHz (MP36, BIOPAC, Goleta, California, USA).

Elastography. During the first part of the protocol (i.e., passive stretching cycles), an Aixplorer ultrasound scanner (version 4.2; Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France), coupled with a linear transducer array (4–15 MHz, SuperLinear 15-4, Vermon, Tours, France) was used in SSI mode (musculo-skeletal preset) as

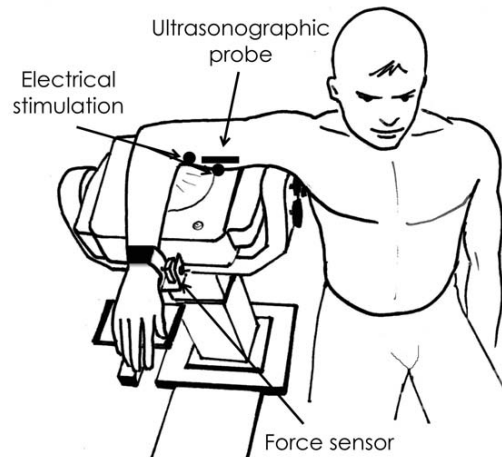


Figure 1. Schematic representation of the experimental setup.

Positioning of the subject with shoulder abducted at 90 degrees and forearm placed in a 90 flexed position. The wrist was directly in contact with a force sensor and velcro straps ensured constant contact. Adapted from Lacourpaille et al. (in press) with permission from Elsevier.

doi:10.1371/journal.pone.0053159.g001

previously described [13,14]. Assuming a linear elastic behavior, the muscle shear elastic modulus was calculated as follow:

$$\mu = \rho V_s^2$$

Where ρ is the muscle mass density (1000 kg.m³) and V_s is the shear wave speed. As discussed previously [15,16], the hypothesis of linear material is well accepted in muscle elastographic studies, for both transient elastography [13,17] and magnetic resonance elastography [18,19]. Maps of the shear elastic modulus were obtained at 1 Hz with a spatial resolution of 1 × 1 mm (Fig. 2).

Surface EMG activity. Surface EMG electrodes (Delsys DE 2.1, Delsys Inc., Boston, MA, USA; 1 cm interelectrode distance) were placed on the muscle belly biceps brachii and long head of triceps brachii. EMG signals were amplified (×1000) and digitized (6–400 Hz bandwidth) at a sampling rate of 1 kHz (Bagnoli 16, Delsys, Inc. Boston, USA). EMG was monitored during the passive stretching cycles, and trials with EMG greater than 1% of maximal voluntary contraction were discarded [9,20,21].

Electrical stimulation. During the second part of the protocol (i.e., electromechanical delay), elbow flexion was initiated by means of percutaneous electrical stimulation over the biceps brachii. A constant current stimulator (Digitimer DS7A, Digitimer, Letchworth Garden City, UK) delivered a single electrical pulse (pulse duration = 500 μs, 400 V) through two electrodes (2 × 1.5 cm, Compex, Annecy-le-vieux, France) placed on the main motor point and on the distal portion of biceps brachii [3,4]. The motor point was determined by detecting the location that induced the strongest muscle twitch with the lowest electrical stimulation intensity. To determine the minimal stimulation intensity required to induce the maximal muscle torque (107 ± 24 mA), the output current was incrementally increased (from 0 mA, with an incremental step of 5 mA) until a maximum torque output was reached.

Ultrasonography. To assess the electromechanical delay, a very high frame rate ultrasound scanner (Aixplorer, version 4.2, Supersonic Imagine, Aix en Provence, France) coupled with

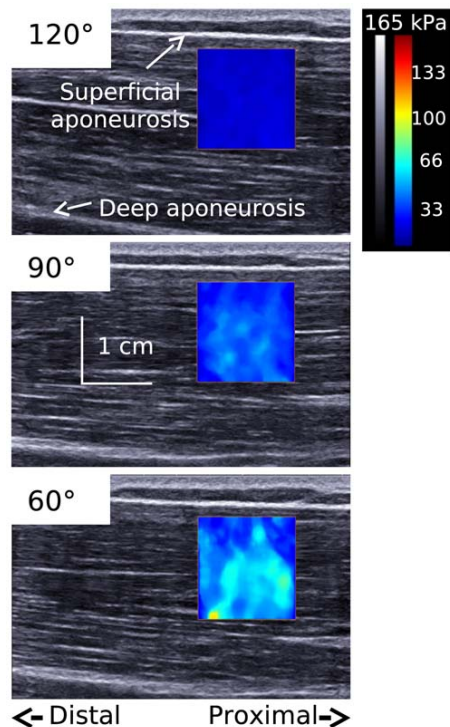


Figure 2. Typical example of shear elastic modulus measurement at different elbow angles. Typical example of shear elastic modulus of the long head of biceps brachii at 120°, 90°, and 20° of elbow joint angle. The colored region represents the map of shear elastic modulus values.

doi:10.1371/journal.pone.0053159.g002

a linear transducer array (4–15 MHz, SuperLinear 15-4, Vermon, Tours, France) was used in « research » mode to acquire raw radio frequency (RF) signals at 4 kHz. At the start of each ultrasound acquisition, the scanner sent a transistor-transistor logic (TTL) pulse to a train/delay generator (DS7A, Digitimer Ltd, Welwyn Garden City, UK) that generated a TTL pulse to the electrical stimulator with a 48.00-ms delay to have a sufficient baseline to detect the onset of tissue motion. To check the consistency of synchronization throughout the experiments, TTL pulses from both the ultrasound scanner and the train/delay generator were recorded using the same device that recorded the force signal (MP36, Biopac, Goleta, California, USA).

Protocol

Passive tension. To account for a possible effect of conditioning, participants first performed five slow ($10^\circ/\text{s}$) passive loading/unloading cycles between 120° and 20° of elbow flexion (0° represents full extension) that were not analyzed [22]. Immediately after, the ultrasound probe was placed on either head of the biceps brachii (in random order) and participant's biceps brachii was passively stretched through 2 very slow ($2^\circ/\text{s}$) loading/unloading cycles over the same range of motion. The shear elastic modulus of each head of the biceps brachii was measured during the extension phase. Online EMG feedback was provided to the participants and the examiner. Participants were asked to stay as relaxed as possible throughout the loading/unloading cycles. If EMG activity was observed during the trial, recording ceased, and another trial initiated. However, this did not occur.

Electromechanical delay. Immediately after completion of the first part of the protocol, EMD was evaluated at a range of elbow flexion angles. First, five slow ($10^\circ/\text{s}$) passive loading/unloading cycles were performed to account for a possible effect of conditioning (no data were recorded during these cycles). Then, two electrically evoked contractions of biceps brachii (designated as muscle trials and tendon trials, when the ultrasound probe was positioned above the muscle and tendon, respectively) were performed at 11 angles, i.e., in 10° increments from 20° to 120° of elbow flexion, in a randomized order, with one minute of rest between each contraction. Participants were instructed to be fully relaxed prior to each stimulation. During the muscle and tendon trials, the echographic probe was maintained parallel to the muscle fascicles and on the previously localized distal myotendinous junction of the biceps brachii, respectively. Because it was not possible to selectively stimulate one head of biceps brachii by percutaneous electromyostimulation without stimulating the other head, we were not able to determine a specific EMD for each head. Thus, the measured EMD corresponded to the EMD of the whole muscle [3,4].

Data Processing

All the data were processed using custom Matlab scripts (The Mathworks, Natick, USA).

SSI recordings were exported from software (Version 4.2, Supersonic Imagine, Aix en Provence, France) in “mp4” format and sequenced in “jpeg”. Image processing was performed to convert the colored map into shear elastic modulus values. The average value of shear elastic modulus over the largest muscular region was calculated for each image. The slack length was visually determined by an experienced examiner for both the short and long head [4].

Ultrasonic raw data (i.e., RF signals) obtained using the very high frame rate ultrasound device were used to create echographic images by applying a conventional beam formation, i.e., applying a time-delay operation to compensate for the travel time differences. These ultrasound images were used to determine the region of interest (ROI; see Fig. 3 of ref [4]) for each contraction, i.e., between the two aponeuroses of the biceps brachii muscle for muscle trials and on the biceps brachii myotendinous junction for tendon trials. Using a one-dimensional cross correlation of windows of consecutive RF signals, the displacements along the ultrasound beam axis (y -axis) were calculated [23,24,25]. Thus, the tissue motion between the two consecutive images (i.e., particle velocity) was measured with a micrometric precision. Displacements were then averaged over the previously determined ROI, and these averaged signals were used to detect the onset of motion. The onset of tissue motion (for the muscle fascicles and myotendinous junction) and the onset of force production were detected visually [4]. The time (delay) between the electrical stimulation (i.e., beginning of stimulation artefact) and the onset of muscle fascicles motion (Dm), myotendinous junction motion (Dt), and force production (EMD) were calculated for each elbow angle.

Statistical Analysis

Normality testing (Kolmogorov-Smirnov) was consistently passed and thus values are reported as mean \pm standard deviation. A paired t -test was used to compare the slack length of the two heads of biceps brachii. The effect of probe location [i.e., 4 locations (Dm and EMD for muscle trials and Dt and EMD for tendon trials)] and elbow joint angle [i.e., 11 elbow angles (20° , 30° , 40° , 50° , 60° , 70° , 80° , 90° , 100° , 110° , and 120°)] was tested using a two-way repeated measures ANOVA. Post-hoc analyses were

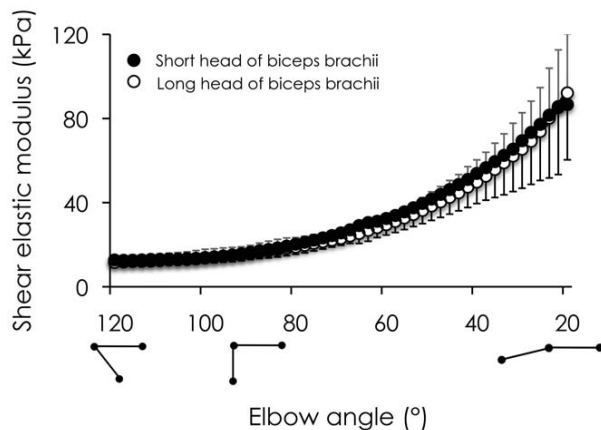


Figure 3. Relationship between shear elastic modulus and elbow joint angle for both heads of biceps brachii. Shear elastic modulus (kPa) was obtained for all participants using supersonic shear imaging during passive loading cycles performed between 20° and 120° of elbow flexion (0° represents full extension). The change of shear elastic modulus for both the short head (mean values in black circles and standard deviation in black lines) and the long head (mean values in open circles and standard deviation in gray) of biceps brachii is represented.

doi:10.1371/journal.pone.0053159.g003

performed when appropriated using Scheffe's method. The statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Due to technical problems in the export of high frame rate ultrasound data and amplification of force signals during the experimentation, two participants were not included in the analysis. Results are therefore presented from 10 participants.

Relationship between Muscle Shear Elastic Modulus and Elbow Joint Angle

Fig. 3 depicts the relationship between shear elastic modulus and elbow joint angle for each head of the biceps brachii. In accordance with previous literature [8], the change in muscles stiffness during the passive stretching was exponential. The smallest elbow flexion angle at which the shear elastic modulus increased (the slack length) was similar between the two heads of the biceps brachii ($95.5 \pm 6.3^\circ$ and $95.3 \pm 8.2^\circ$ for the long and short head of the biceps brachii, respectively) ($p = 0.99$).

Effect of Elbow Joint Angle on EMD, Dm and Dt

The influence of the elbow joint angle on EMD and its mechanisms (Dm and Dt) is depicted in Fig. 4. ANOVA revealed a significant main effect of location ($p < 0.001$). More precisely, Dm was significantly shorter than EMD for muscle trials (3.9 ± 0.2 ms vs. 11.8 ± 2.3 ms; $p < 0.001$), and Dt was significantly shorter than EMD for tendon trials (3.7 ± 0.3 ms vs. 11.8 ± 2.2 ms; $p < 0.001$). No significant difference was found between Dm and Dt ($p = 0.96$) or between EMD measured during muscle trials and tendon trials ($p = 0.99$).

A main effect of elbow joint angle on the delays was found ($p < 0.001$) corresponding to an overall decrease when the elbow joint was extended. In addition, a significant interaction location x elbow joint angles was found ($p < 0.001$), indicating that Dm, Dt, and EMD were not similarly altered by the elbow joint angle. More precisely, 120°, 110° and 100° of the elbow joint angle

induced a significantly longer EMD compared to 90° (i.e., $p < 0.001$, $p < 0.001$, and $p = 0.01$, respectively). However, there were no significant changes in Dm and Dt across elbow angles ($p > 0.95$ for all the paired comparisons).

Discussion

The aim of the present work was to determine the slack length of each head of the biceps brachii muscle, and to evaluate the influence of muscle length (relative to this slack length) on the electro-chemical and mechanical processes involved in the electromechanical delay. The results demonstrate that the slack length of both heads of biceps brachii occur at the same elbow angle ($\approx 95^\circ$). EMD was significantly longer for the most flexed elbow angles (100°, 110°, and 120°) compared to 90°, and it was not significantly changed for more extended angles, i.e. when muscle-tendon length was longer than the slack length. The onset of muscle motion and the onset of myotendinous junction motion occurred simultaneously regardless of the muscle length.

A passive torque-angle curve is classically used to study the behaviour of the muscle-tendon unit *in vivo* [9,21,22,26,27]. However, this curve is a composite of several structures including agonist and antagonist muscles, tendons, skin, ligaments, joint capsule, etc. [12]. Consequently, it cannot be used to directly estimate the slack length of a given muscle-tendon unit. Maisetti et al. [8] recently showed that the shear elastic modulus of the gastrocnemius medialis can be reliably measured using SSI during the loading phase of passive stretches providing a direct estimation of passive muscle-tendon tension and slack length. Using the same experimental technique, we determined the slack length of the biceps brachii in the present study at about 95°, corresponding to a muscle-tendon length of about 35.1 cm (calculating using the model proposed by Martin et al. [28] and Valour and Pousson, [29]). The main advantage of the elastographic method used in the present study is that it can be easily used to individualize neuromusculoskeletal models. As the muscle-tendon slack length is one of the parameters in Hill-type muscle models [30,31] this individualization is of great interest. Despite the differences in proximal insertion between the two heads of the biceps brachii and the potential "pre-tension" of the short head of biceps brachii induced by the experimental setup (i.e., shoulder abducted 90°), the slack length of both heads occurred at the same joint angle. Mechanical interactions between muscles have been shown in animals [32,33] and humans [34]. As the two heads of the biceps brachii are connected by the bicipital aponeurosis and their common distal tendon, it is possible that intermuscular force transmission occurred between the two heads. In other words, passive tension within one head could have been transmitted to the other one, explaining that the slack length occurred at the same angle for each of them.

We report EMD values ranging from 10.2 ± 1.4 ms to 17.2 ± 3.4 ms for 50° and 120° of elbow flexion, respectively. These values are close to those reported in the literature during electrically evoked contractions and confirm that EMD is affected by the muscle-tendon unit length [2,3,4,10,11,35]. More precisely, for muscle-tendon unit lengths shorter than the measured slack length (i.e., 95° of elbow flexion), the EMD decreased with increase in elbow joint angle (Fig. 4) until a plateau of 90° of elbow flexion, after which EMD remained stable. As previously suggested by Sasaki et al. [11], the increase in EMD at short muscle lengths (i.e., shorter than the slack length) is likely to be explained by the time required for the muscle to take up the slack within the muscle-tendon unit.

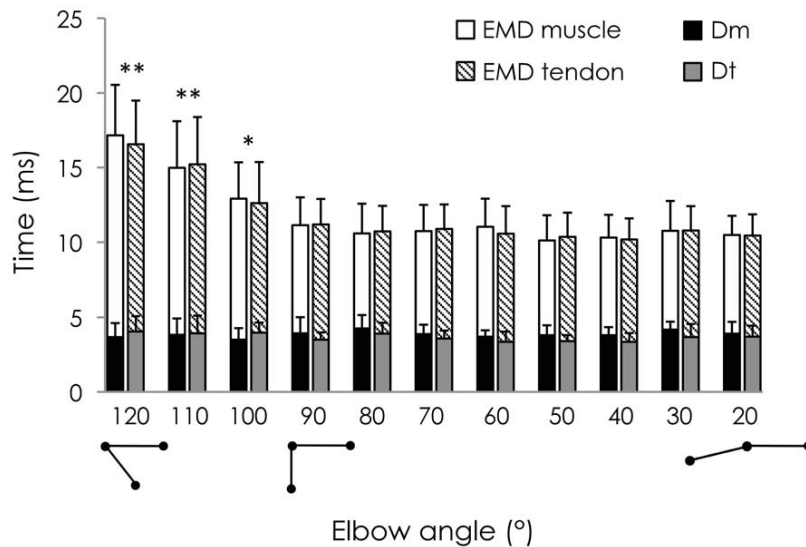


Figure 4. Effect of elbow joint angle on EMD, Dm, and Dt. For each angle, electromechanical delay (EMD), the onset of muscle fascicle motion (Dm) and the onset of myotendinous junction motion (Dt) were determined during an electrically evoked contraction. Two histograms are depicted for each angle (for muscle trials and for tendon trials). EMD for muscle and tendon trials is represented by the addition of filled and open bars (muscle trials) and filled and hatched bars (tendon trials). Dm and Dt are symbolized by the filled bars in black and grey, respectively. *: $p < 0.05$ and **: $p < 0.001$: Significant difference in EMD from the elbow joint angle of 90° . doi:10.1371/journal.pone.0053159.g004

To our knowledge, only Sasaki et al. [11] previously studied the influence of joint angle on electrochemical processes of EMD, which was determined as the delay between the onset of stimulation and the onset of muscle contraction (assessed by accelerometers placed on the skin). They showed that this delay was not influenced by elbow joint angle. However, no study has evaluated the relationship between elbow joint angle and the force transmission between muscle fascicles and myotendinous junction during EMD. The results of the present study demonstrate that Dm and Dt were not significantly altered by the elbow joint angle and occurred concomitantly regardless of the muscle length. Therefore, the discrepancy in the force transmission in EMD between gastrocnemius medialis [2] and biceps brachii [3] previously reported in the literature cannot be due to differences in muscle passive tension induced by the experimental setup. The architectural differences between these two muscles (pennate vs. fusiform) are likely to explain the differences in muscle force transmission suggested by Dm, Dt and EMD measurements.

Conclusion

This study shows that the slack length determined by SSI does not differ between the two heads of the biceps brachii. Our results also show that the discrepancy in electro-chemical and mechanical processes of EMD between gastrocnemius medialis [2] and biceps brachii [3] is likely due to muscle architecture rather than a difference in passive tension. Both the determination of the slack length by SSI and EMD could be useful to follow changes in mechanical and contractile properties of target muscles particularly affected by neuromuscular disorders or involved in rehabilitation/training programs.

Acknowledgments

The authors thank Dr Kylie TUCKER (The University of Queensland, Australia) for editing the manuscript and Jean HUG for drawing Fig. 1.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: LL FH AN. Performed the experiments: LL. Analyzed the data: LL. Contributed reagents/materials/analysis tools: LL FH AN. Wrote the paper: LL FH AN.

References

- Cavanagh PR, Komi PV (1979) Electromechanical delay in human skeletal muscle under concentric and eccentric contractions. *Eur J Appl Physiol* 42: 159–163.
- Nordez A, Gallot T, Catheline S, Guevel A, Cornu C, et al. (2009) Electromechanical delay revisited using very high frame rate ultrasound. *J Appl Physiol* 106: 1970–1975.
- Hug F, Gallot T, Catheline S, Nordez A (2011) Electromechanical delay in biceps brachii assessed by ultrafast ultrasonography. *Muscle Nerve* 43: 441–443.
- Lacourpaille L, Nordez A, Hug F Influence of stimulus intensity on electromechanical delay and its mechanisms. *J Electromyogr Kinesiol*. In press.
- Murray WM, Buchanan TS, Delp SL (2000) The isometric functional capacity of muscles that cross the elbow. *J biomech* 33: 943–952.
- Muraoka T (2004) Influence of tendon slack on electromechanical delay in the human medial gastrocnemius in vivo. *J Appl Physiol* 96: 540–544.
- Hoang PD, Gorman RB, Todd G, Gandevia SC, Herbert RD (2005) A new method for measuring passive length-tension properties of human gastrocnemius muscle in vivo. *J Biomech* 38: 1333–1341.
- Maisetti O, Hug F, Bouillard K, Nordez A (2012) Characterization of passive elastic properties of the human medial gastrocnemius muscle belly using supersonic shear imaging. *J Biomech* 45: 978–984.
- Nordez A, Gennison JL, Casari P, Catheline S, Cornu C (2008) Characterization of muscle belly elastic properties during passive stretching using transient elastography. *J Biomech* 41: 2305–2311.
- Muro A, Nagata A (1985) The effects on electromechanical delay of muscle stretch of the human triceps surae. In: *Biomechanics IX-A*, edited by Winter DA, Norman RW, Wells R P, Hayes KC, Patla A E Champaign, IL: Human Kinetics (1985) 86–90.
- Sasaki K, Sasaki T, Ishii N (2011) Acceleration and force reveal different mechanisms of electromechanical delay. *Med Sci Sports Exerc* 43: 1200–1206.

12. Riemann BL, DeMont RG, Ryu K, Lephart SM (2001) The effects of sex, joint angle, and the gastrocnemius muscle on passive ankle joint complex stiffness. *J Athl Train* 36: 369–375.
13. Bercoff J, Tanter M, Fink M (2004) Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectrics Freq Contr* 51: 396–409.
14. Tanter M, Bercoff J, Sinkus R, Defieux T, Gennisson JL, et al. (2008) Quantitative assessment of breast lesion viscoelasticity: initial clinical results using supersonic shear imaging. *Ultrasound Med Biol* 34: 1373–1386.
15. Nordez A, Hug F (2010) Muscle shear elastic modulus measured using supersonic shear imaging is highly related to muscle activity level. *J Appl Physiol* 108: 1389–1394.
16. Lacourpaille L, Hug F, Bouillard K, Hogrel JY, Nordez A (2012) Supersonic shear imaging provides a reliable measurement of resting muscle shear elastic modulus. *Physiol Meas* 33: 19–28.
17. Catheline S, Gennisson JL, Delon G, Fink M, Sinkus R, et al. (2004) Measuring of viscoelastic properties of homogeneous soft solid using transient elastography: an inverse problem approach. *J. Acoust Soc Am* 116: 3734–3741.
18. Dresner MA, Rose GH, Rossman PJ, Muthupillai R, Manduca A, et al. (2001) Magnetic resonance elastography of skeletal muscle. *J Magn Reson Imaging* 13: 269–276.
19. Debernard L, Robert L, Charleux F, Bensamoun SF (2011) Analysis of thigh stiffness from childhood to adulthood using magnetic resonance elastography (MRE) technique. *Clin Biomech* 26: 836–840.
20. McNair PJ, Dombroski EW, Hewson DJ, Stanley SN (2001) Stretching at the ankle joint: viscoelastic responses to holds and continuous passive motion. *Med Sci Sports Exerc.* 33: 354–358.
21. McNair PJ, Hewson DJ, Dombroski E, Stanley SN (2002) Stiffness and passive peak force changes at the ankle joint: the effect of different joint angular velocities. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 17: 536–540.
22. Nordez A, McNair PJ, Casari P, Cornu C (2008) Acute changes in hamstrings musculo-articular dissipative properties induced by cyclic and static stretching. *Int J Sports Med* 29: 414–418.
23. Catheline S, Wu F, Fink M. (1999) A solution to diffraction biases in sonoelasticity: the acoustic impulse technique. *J Acoust Soc Am* 105: 2941–2950.
24. Defieux T, Gennisson JL, Tanter M, Fink M, Nordez A (2006) Ultrafast imaging of in vivo muscle contraction using ultrasound. *Appl Phys Lett* 89: 184107–184111.
25. Defieux T, Gennisson JL, Tanter M, Fink M (2008) Assessment of the mechanical properties of the musculoskeletal system using 2-D and 3-D very high frame rate ultrasound. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectrics Freq Contr* 55: 2177–2190.
26. Magnusson SP (1998) Passive properties of human skeletal muscle during stretch maneuvers. A review. *Scand J Med Sci Sports* 8: 65–77.
27. Gajdosik RL (2001) Passive extensibility of skeletal muscle: review of the literature with clinical implications. *Clin Biomech* 16: 87–101.
28. Martin A, Morlon B, Pousson M, Van Hoecke J (1996) Viscosity of the elbow flexor muscles during maximal eccentric and concentric actions. *Eur J Appl Physiol* 73: 157–162.
29. Valour D, Pousson M (2003) Compliance changes of the series elastic component of elbow flexor muscles with age in humans. *Pflügers Arch* 445: 721–727.
30. De Groot F, Van Campen A, Jonkers I, De Schutter J (2010) Sensitivity of dynamic simulations of gait and dynamometer experiments to hill muscle model parameters of knee flexors and extensors. *J Biomech* 43: 1876–1883.
31. Ackland DC, Lin YC, Pandy MG (2012) Sensitivity of model predictions of muscle function to changes in moment arms and muscle–tendon properties: A Monte-Carlo analysis. *J Biomech* 45: 1463–1471.
32. Maas H, Sandercock TG (2008) Are skeletal muscles independent actuators? Force transmission from soleus muscle in the cat. *J Appl Physiol* 104: 1557–1567.
33. Maas H, Baan GC, Huijting PA (2001) Intermuscular interaction via myofascial force transmission: effects of tibialis anterior and extensor hallucis longus length on force transmission from rat extensor digitorum longus muscle. *J Appl Physiol* 34: 927–940.
34. Tian M, Herbert RD, Hoang P, Gandevia SC, Bilston LE Myofascial force transmission between the human soleus and gastrocnemius muscles during passive knee motion. *J Appl Physiol*. In press.
35. Moritani T, Berry MJ, Bacharach DW, Nakamura E (1987) Gas exchange parameters, muscle blood flow and electromechanical properties of the plantar flexors. *Eur J Appl Physiol* 56: 30–37.

ÉTUDE #2

Influence de l'intensité de stimulation sur le délai électromécanique et ses mécanismes

Publication associée

Lacourpaille L., Nordez A., & Hug F. (2013)

INFLUENCE OF STIMULUS INTENSITY ON ELECTROMECHANICAL DELAY AND ITS MECHANISMS.

Journal of Electromyography and Kinesiology, 23(1):51-55.

INTRODUCTION

L'étude du délai électromécanique (DEM) lors de contractions musculaires volontaires présente de nombreuses limites (Hug et al., 2011a). Pour s'en affranchir, le DEM est souvent caractérisé au cours de contractions musculaires involontaires. Différentes méthodes permettent d'évoquer ces contractions, telles que la stimulation électrique nerveuse (Muro et Nagata, 1985; Grosset et al., 2009; Hopkins et al., 2007) et la stimulation électrique musculaire (Muraoka et al., 2004 ; Nordez et al., 2009; Sasaki et al., 2011). Parmi celles-ci, la stimulation électrique musculaire est préférable lorsque l'on souhaite isoler la contraction d'un muscle (Muraoka et al., 2004 ; Nordez et al., 2009 ; Sasaki et al., 2011). Toutefois, l'influence de l'intensité de stimulation sur le comportement de ce muscle n'est pas connue. Dans un contexte d'évaluation ou de rééducation, cette information permettrait de moduler l'intensité de stimulation pour réduire l'inconfort du patient ou limiter la stimulation des muscles adjacents. En outre, une quantification de la reproductibilité « *inter-day* » du DEM et de ses composantes (i.e., DEM, Dm et Dt) est importante dans la perspective d'une utilisation à visée évaluative.

À partir de la méthodologie basée sur l'échographie ultrarapide, présentée dans l'étude #1, l'objectif de ce travail était de quantifier l'influence de la stimulation électrique sur les processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans le DEM du *biceps brachii*. Considérant un recrutement aléatoire et non-sélectif du type de fibres (Gregory et Bickel, 2005) et de leur localisation (Adams et al., 1993) lors de contractions électro-induites, nous avons fait l'hypothèse que DEM, Dm et Dt n'étaient pas affectés par l'intensité de stimulation.

MATÉRIELS & MÉTHODE

10 sujets ont participé à cette étude ($22,9 \pm 2,2$ ans; $181,0 \pm 7,7$ cm; $75,8 \pm 8,4$ kg). Une rampe de stimulation a permis de déterminer l'intensité minimale de stimulation générant la réponse mécanique maximale (I_{max}). Deux contractions musculaires ont ensuite été évoquées électriquement à chacune des six intensités de stimulation suivantes : 30, 50, 70, 90, 110, 130 % de I_{max} (ordre aléatoire). La sonde était positionnée sur le muscle (*essai muscle*) ou sur la jonction myotendineuse (*essai tendon*). La reproductibilité « *inter-day* » de chaque délai (DEM, Dm, et Dt) a été quantifiée à 70 % et 90 % de I_{max} .

RÉSULTATS

La reproductibilité est satisfaisante pour les deux intensités testées (70 et 90 % de I_{max}) (tableau 2). En effet, le coefficient de variation maximal obtenu est de 12,4 % pour le D_m à 70 % de I_{max} .

Tableau 2 : Reproductibilité « *inter-day* » des trois délais caractérisés (DEM , D_m et D_t), à 70 et 90% de I_{max} .

Intensité (% I_{max})	Indice	DEM	D_m	D_t
70%	ESM (ms)	0,66	0,51	0,34
	CV (%)	6,8	12,4	8,2
90%	ESM (ms)	0,75	0,43	0,39
	CV (%)	8,0	11,0	10,8

I_{max} : intensité minimale de stimulation induisant la réponse mécanique maximale (mA), ESM : erreur standard de mesure (ms), CV : coefficient de variation (%), DEM : délai entre l'artefact de stimulation électrique et le début de production de force, D_m : délai entre l'artefact de stimulation et le début de mouvement des fascicules musculaires, D_t : délai entre l'artefact de stimulation et le début de mouvement de l'insertion myotendineuse (i.e., extrémité proximale du tendon) (ms).

L'intensité de stimulation affecte significativement les délais caractérisés (effet principal « *intensité* » : $P=0,001$). Plus précisément, les délais sont significativement inférieurs à 30 % et 50 % du I_{max} par rapport aux intensités supérieures à 70 % du I_{max} (i.e., 70, 90, 110, 130 %) (figure 27A, B). Toutefois, aucune interaction *intensité* × *délai* n'a été observée ($P=0,50$), signifiant que les différents délais mesurés (i.e., DEM , D_m et D_t) ne sont pas affectés différemment par l'intensité de stimulation (figure 27C, D).

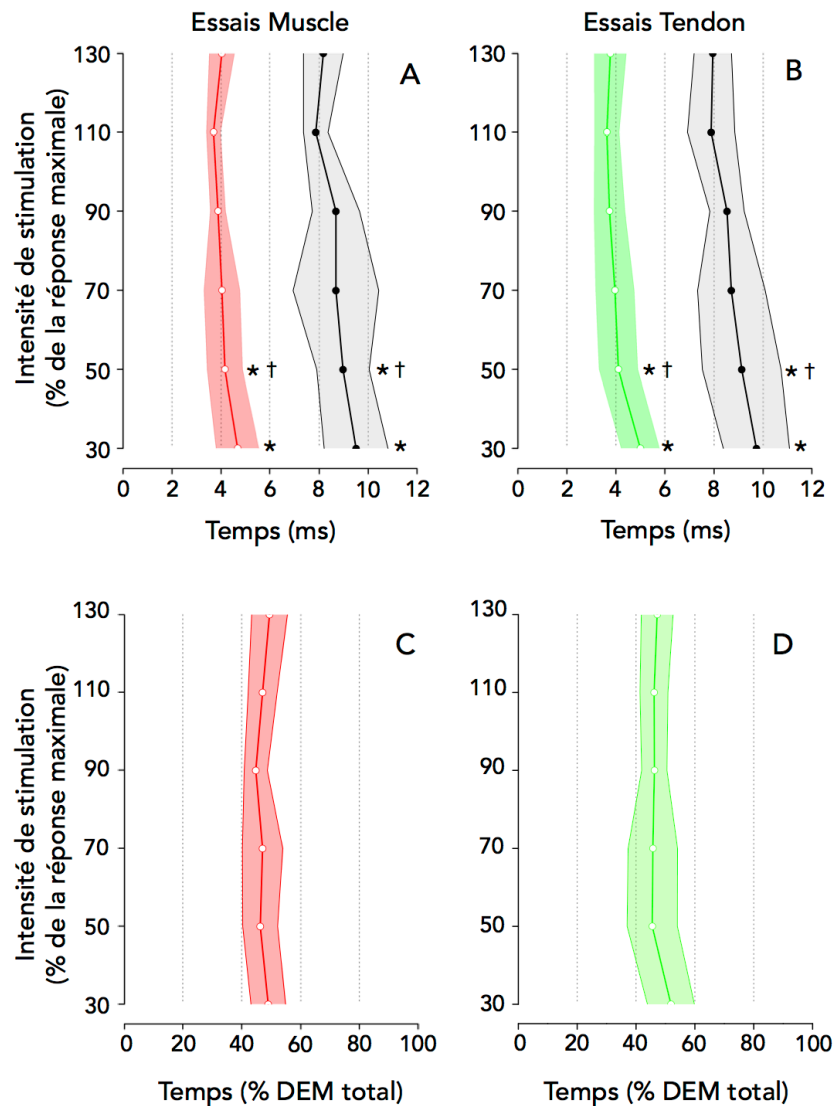


Figure 27: Influence de l'intensité de stimulation sur DEM, D_m et D_t. L'intensité de stimulation est exprimée en pourcentage de l'intensité maximale de stimulation (% de I_{max}, intensité de stimulation minimale nécessaire pour évoquer la force maximale du biceps brachii). A. Le délai électromécanique (DEM, essai muscle) et le délai entre l'artéfact de stimulation et le début de mouvement des fascicules (D_m), apparaissent en noir et en rouge respectivement. B. Le DEM (essai tendon) et le délai entre l'artéfact de stimulation et le début de mouvement de la jonction myotendineuse (D_t), exprimés en ms, sont matérialisés en noir et en vert respectivement. C et D représentent l'évolution relative de D_m (en rouge) et D_t (en vert) (i.e., en pourcentage du DEM total) en fonction de l'intensité de la stimulation. *: différence significative avec 70, 90, 110, 130 % du I_{max} et †: différence significative avec 110% du I_{max}.

CONCLUSION

Cette étude a démontré que DEM, D_m et D_t du *biceps brachii* sont influencés par l'intensité de stimulation électrique. Par conséquent, ces résultats soulignent l'intérêt de

standardiser l'intensité de stimulation afin de pouvoir réaliser des comparaisons intra- et inter-sujets. Par ailleurs, la bonne reproductibilité « *inter-day* » obtenue pour les différents indices (DEM, Dm et Dt) (i.e., coefficient de variation entre 6,8 et 12,5 %) met en exergue le potentiel de cette méthodologie pour l'évaluation longitudinale.



Influence of stimulus intensity on electromechanical delay and its mechanisms

Lilian Lacourpaille, Antoine Nordez*, François Hug

University of Nantes, Laboratory "Motricité, Interactions, Performance" (EA 4334), Nantes, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 April 2012
Received in revised form 26 June 2012
Accepted 27 June 2012

Keywords:

Ultrafast ultrasound
Biceps
Excitation–contraction coupling
Muscle force transmission
Stimulation

ABSTRACT

Electromechanical delay (EMD) is the time lag between muscle activation and force development. Using very high frame rate ultrasound, both electrochemical and mechanical processes involved in EMD can be assessed. Percutaneous electrical stimulations at submaximal intensity are often used to stimulate a specific target muscle. The aim of this study was to determine whether stimulus intensity alters the delay between stimulation and the onset of muscle fascicles motion (Dm), the onset of myotendinous junction motion (Dt), and force production (EMD). Ten participants underwent two electrically evoked contractions, with the probe maintained either the biceps brachii muscle belly or the distal myotendinous junction of the biceps brachii, for six stimulus intensities (30%, 50%, 70%, 90%, 110% and 130% of the lowest intensity inducing the maximal involuntary force production, I_{max}). In addition, inter-day reliability was tested in nine participants at both 70% and 90% of I_{max}. Dm, Dt and EMD were significantly longer ($p < 0.001$) at very low (30% and 50% of I_{max}) compared to higher intensities (70%, 90%, 110% and 130% of I_{max}). Inter-day reliability of EMD, Dm, and Dt was good (coefficient of variation ranged from 6.8% to 12.5%, i.e. SEM lower than 0.79 ms). These results indicate that the stimulus intensity needs to be standardized to perform longitudinal evaluation and/or to make between-subject comparisons.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Electromechanical delay (EMD) is the time lag between muscle activation and force development (Cavanagh and Komi, 1979) and is influenced by both electrochemical processes (e.g., synaptic transmission, excitation–contraction coupling) and mechanical processes (force transmission along the active and passive fraction of the series elastic component, SEC) (Cavanagh and Komi, 1979; Sasaki et al., 2011). Using very high frame rate ultrasound (4 kHz), Nordez et al. (2009) recently determined the relative contribution of these processes to EMD during electrically evoked contractions. More precisely, by measuring the onset of motion for the muscle fascicles and myotendinous junctions of the gastrocnemius medialis they concluded that 47.5% of the total EMD was due to propagation of force along the passive part of the series elastic component ($\approx 20.3\%$ for aponeurosis and $\approx 27.6\%$ for tendon) (Nordez et al., 2009). Since EMD is modified in case of pathology [e.g., neuropathy (Granata et al., 2000), myopathy (Orizio et al., 1997)] or by training regime (Linford et al., 2006; Grosset et al., 2009), this innovative non-invasive methodology has been proposed to be useful for evaluating the effects of neuromuscular disorders or training/rehabilitation protocols (Hug et al., 2011a).

Because quantification of EMD during voluntary contraction presents some drawbacks associated with the difficulty in precisely detecting the beginning of muscle activation (Hug et al., 2011b), EMD is often quantified during involuntary muscle contractions such as tendon reflex (Häkkinen and Komi, 1983; Zhou et al., 1995; Moore et al., 2002), electrical nerve stimulation (Muro and Nagata, 1985; Grosset et al., 2009; Hopkins et al., 2007; Yavuz et al., 2010), or percutaneous muscle electrical stimulation (Zhou et al., 1995; Muraoka, 2004; Nordez et al., 2009; Hug et al., 2011a; Sasaki et al., 2011). Among them, percutaneous stimulation is preferable because it allows the clinician/researcher to study the EMD of a specific target muscle (Muraoka, 2004; Nordez et al., 2009; Sasaki et al., 2011). However, it is unclear if the stimulus intensity alters EMD. This information is of great interest because performing experiments at submaximal intensities would both limit the discomfort associated with the electrical stimulation and limit activation of adjacent muscles.

Focusing on these potential outcomes, the purpose of the present experiment was to determine whether stimulus intensity alters electromechanical delay in biceps brachii. Using very high frame rate ultrasound, we measured the delay between muscle stimulation and (i) the onset of muscle fascicles motion (Dm), (ii) the onset of myotendinous junction motion (Dt), and (iii) force production (i.e., EMD). It allowed us to isolate the putative effect of intensity on the main structures/mechanisms of EMD. As percutaneous electrical stimulation activates muscles with random and non-selective muscle recruitment in terms of both fiber type (Gregory

* Corresponding author. Address: University of Nantes, Laboratory "Motricité, Interactions, Performance" (EA 4334), 25 bis boulevard Guy Mollet, BP 72206, 44322 Nantes cedex 3, France. Tel.: +33 02 51 83 72 08; fax: +33 02 51 83 72 10.
E-mail address: antoine.nordez@univ-nantes.fr (A. Nordez).

and Bickel, 2005) and spatial organization (Adams et al., 1993), we hypothesised that electrochemical processes are not affected by the stimulation intensity. On the other hand, it seems unclear whether muscle force transmission velocity is influenced by stimulation intensity.

2. Materials and methods

2.1. Participants

Ten active males volunteered to participate in the present study (age: 22.9 ± 2.2 years, height: 181 ± 7.7 cm, body mass: 75.8 ± 8.4 kg). They were informed of the possible risk and discomfort associated with the experimental procedures prior to giving their written consent to participate. This study was conducted according to the Declaration of Helsinki (last modified 2004) and has been approved by the local ethics committee.

2.2. Instrumentation

2.2.1. Ergometer

A schematic representation of the experimental set-up is depicted in Fig. 1. Participants sat on an isokinetic dynamometer (Biodex System 3 Research, Biodex Medical, Shirley, USA) with shoulder abducted at 90° and forearm placed in a 90° flexed position with the wrist in a neutral position. Because of the lack of sensitivity of the isokinetic ergometer to precisely detect the onset of elbow flexion force, a force transducer (SML-50, Interface, Arizona, USA) was incorporated in the ergometer and connected with Velcro straps to the wrist to ensure constant contact (Fig. 1). Isometric elbow flexion force was digitized at a sampling rate of 5 kHz (MP36, BIOPAC, Goleta, California).

2.2.2. Electrical stimulation

Elbow flexion was initiated by means of percutaneous electrical stimulation over the biceps brachii. A constant current stimulator

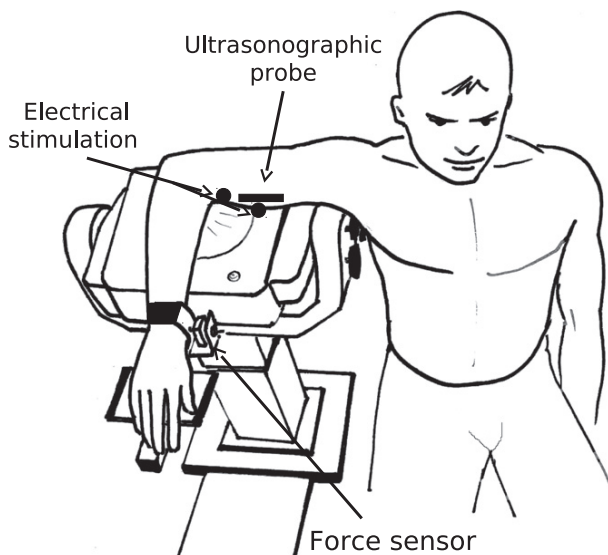


Fig. 1. Schematic representation of the experimental setup. Positioning of the subject with shoulder abducted 90° and forearm placed in a 90° flexed position. The wrist was directly in contact with a force sensor and velcro straps ensured constant contact. Elbow flexion was initiated by percutaneous electrical stimulation over the biceps brachii using two electrodes placed on the motor point and proximal portion of biceps brachii. Each subject underwent two bouts composed of two electrically evoked contractions with the echographic probe maintained over either the biceps brachii muscle belly or the distal myotendinous junction of the biceps brachii muscle.

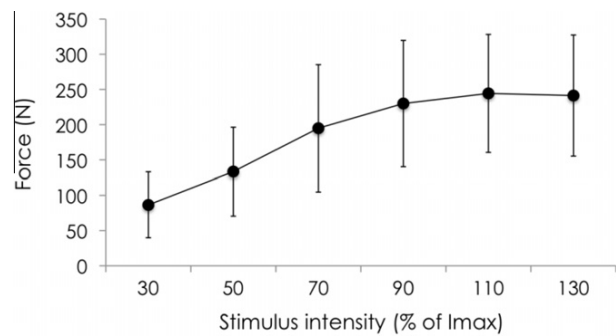


Fig. 2. Dependence of peak twitch force on the stimulus intensity. Values are means \pm SD. Relationship between force (Newtons, N) and stimulus intensity (% I_{max}).

(Digitimer DS7A, Digitimer, Letchworth Garden City, UK) delivered a single electrical pulse (pulse duration = $500 \mu\text{s}$, 400 V) through two electrodes (2×1.5 cm, Compex, Annecy-le-vieux, France) placed on the main motor point and proximal portion of biceps brachii (Hug et al., 2011a). The motor point was considered as the location inducing the strongest twitch with the lowest electrical stimulation. To determine the minimal stimulation intensity required to induce the maximal elbow flexion force (I_{max}), the output current was incrementally increased (incremental step of 5 mA) until a maximum force output was reached (Fig. 2). The mean I_{max} was 98.5 ± 11.3 mA.

2.2.3. Ultrasonography

A very high frame rate ultrasound scanner (Aixplorer, version 4.2, Supersonic Imagine, Aix en Provence, France) coupled with a linear transducer array (4–15 MHz, SuperLinear 15–4, Vermon, Tours, France) was used in « research » mode to acquire raw radio frequency (RF) signals at 4 kHz.

2.2.4. Synchronisation

At the start of each ultrasound acquisition, the scanner sent a transistor–transistor logic (i.e., TTL) pulse to a train/delay generator (Digitimer Ltd, DG2A, Welwyn Garden City, England) which generated a TTL pulse to the electrical stimulator with a 48.00-ms delay to have a sufficient baseline to detect the onset of tissue motion. To check the absence of desynchronization throughout the experiments, TTL pulses from both the ultrasound scanner and the train/delay generator were recorded using the same device as for the force measurements (MP36, Biopac, Goleta, California).

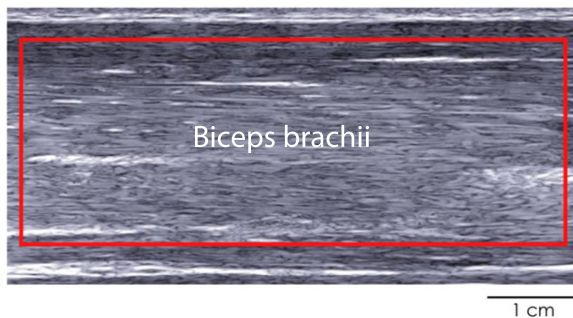
2.3. Protocol

After the previously described recruitment ramp, six electrically evoked contractions were performed at six intensities (30%, 50%, 70%, 90%, 110%, and 130% of I_{max}). They were applied in a randomized order with 1-min rest between each and two trials were performed for each stimulation intensity (designated as muscle trials and tendon trials). During the muscle and tendon trials, the echographic probe was maintained parallel to the muscle fascicles and on the previously localized distal myotendinous junction of the biceps brachii, respectively. Participants were instructed to be fully relaxed prior to each stimulation.

2.4. Data processing

The data processing was performed using standardized Matlab scripts (The Mathworks, Natick, USA). First, ultrasonic raw data (i.e., RF signals) were used to create echographic images by apply-

A. Muscle trial



B. Tendon trial

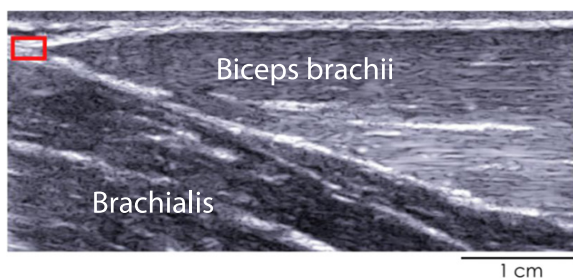


Fig. 3. Typical ultrasound images of the muscle belly (A) and the distal myotendinous junction (B). The region of interest used to calculate particle velocity is indicated by the red rectangles. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

ing a conventional beam formation, i.e., applying a time-delay operation to compensate for the travel time differences. These ultrasound images were used to determine the region of interest (ROI; cf. Fig. 3) for each contraction (i.e., between the two aponeurosis of the biceps brachii muscle for muscle trials and on the biceps brachii myotendinous junction for tendon trials). Using one-dimensional cross correlation of windows of consecutive RF signals, the displacements along the ultrasound beam axis (i.e., y -axis in Fig. 3) were calculated (Catheline et al., 1999; Deffieux et al., 2006, 2008). Thus, the tissue motion between the two consecutive images (i.e., particle velocity) was measured with a micrometric precision.

Displacements were then averaged over the previously determined ROI, and these averaged signals were used to detect the onset of motion. As visual detection has been shown to be highly reliable (Hodges and Bui, 1996), the onset of motion for both muscle and myotendinous junction was defined visually by an experienced examiner. The same method was used to detect the onset of force production. We defined the EMD as the time lag between the onset of the electrical stimulation (i.e., artefact of stimulation) and the onset of force production. Delays between the onset of electrical stimulation and the onset of muscle fascicles motion (Dm, for muscle trials) and between the onset of electrical stimulation and the onset of myotendinous junction motion (Dt, for tendon trials) were calculated. The mechanical processes involved in EMD were calculated as the delay between the onset of muscle fascicles motion and the onset of force production (Tm) and delay between the onset of myotendinous junction motion and the onset of force production (Tt).

2.5. Statistical analysis

Due to a technical problem during the experimentation leading to the loss of some data, one subject was not included in the anal-

ysis and statistics were thus performed on nine subjects. Normality testing (Kolmogorov–Smirnov) was consistently passed and so values are reported as mean \pm SD. A two-way analysis of variance with repeated measures [factors = four locations (Dm and EMD for muscle trials, Dt and EMD for tendon trials) and six stimulus intensities (30%, 50%, 70%, 90%, 110%, and 130% of I_{max})] was used to test whether the stimulation intensity altered Dm, Dt and EMD. Another two-way analysis of variance with repeated measures [factors = two locations (Dm and Dt) and six stimulus intensities (30%, 50%, 70%, 90%, 110%, and 130% of I_{max})] was used to test the effect of stimulus intensity on the relative values of Dm and Dt (i.e., expressed in % of EMD). Finally, the effect of stimulus intensity on mechanical processes involved in EMD (i.e., Tm and Tt) was tested by a two-way analysis of variance [factors = two mechanical processes (Tm and Tt) and six stimulus intensities]. Post hoc analyses were performed when appropriate using Scheffe's method. The statistical significance was set at $p < 0.05$.

2.6. Inter-day reliability

An additional experiment was performed to test the inter-day reliability (reproducibility) of EMD, Dm and Dt at both 70% and 90% of I_{max} . Briefly, the methodology described above was used in nine participants. Seven of them were tested 3 months after the first session. Two new participants were tested on two separate days. Both the coefficient of variation (CV) and the standard error of measurements (SEM) were calculated between the two sessions to assess the reliability (Hopkins, 2000).

3. Results

Fig. 4 depicts the results obtained for both muscle and tendon trials. ANOVA revealed a significant main effect ($p < 0.001$) of location. More precisely, Dm was significantly shorter than EMD for muscle trials (4.1 ± 0.3 ms vs. 8.6 ± 0.5 ms; $p < 0.001$) and Dt was significantly shorter than EMD for tendon trials (4.0 ± 0.5 ms vs. 8.6 ± 0.6 ms; $p < 0.001$). No significant difference was found either between Dm and Dt ($p = 1$) nor between EMD measured during muscle trials and tendon trials ($p = 0.98$). In addition, a main effect of stimulus intensity was found ($p < 0.001$). Post hoc analysis showed differences between extreme values. More precisely, 30% of I_{max} induced significant longer delays compared to 70% ($p = 0.043$), 90% ($p = 0.009$), 110% ($p < 0.001$), and 130% of I_{max} ($p < 0.001$). A significant difference was also found between 50% and 110% of I_{max} ($p = 0.023$). However, no significant interaction location \times stimulus intensity was found ($p = 0.50$) indicating that Dm, Dt, and EMD were similarly altered by the stimulation intensity.

No significant difference between Dm and Dt was found when expressed as a percentage of total EMD ($p = 0.910$) (Dm: $47.3 \pm 1.7\%$ and Dt: $47.1 \pm 2.4\%$). Similarly, no significant effect of intensity was found for relative values of Dm and Dt ($p = 0.058$). The interaction location \times stimulus intensity was also no significant effect ($p = 0.772$).

Although the ANOVA did not revealed significant difference between Tm and Tt ($p = 0.667$) a significant main effect ($p = 0.013$) of stimulus intensity was found. The post hoc analysis revealed no significant difference. Also, no significant interaction was found between mechanical process (Tm and Tt) \times stimulus intensity ($p = 0.954$).

The inter-day reliability was good for both 70% and 90% of I_{max} . For EMD, SEM was 0.66 and 0.75 ms for 70% and 90% of I_{max} , respectively (corresponding to a CV of 6.8% and 8.0%). For Dm, SEM was 0.51 and 0.43 ms for 70% and 90% of I_{max} , respectively (corresponding to a CV of 12.4% and 11.0%). Finally, for Dt, SEM was 0.34 and 0.39 ms for 70% and 90% of I_{max} , respectively (corresponding to a CV of 8.2% and 10.8%).

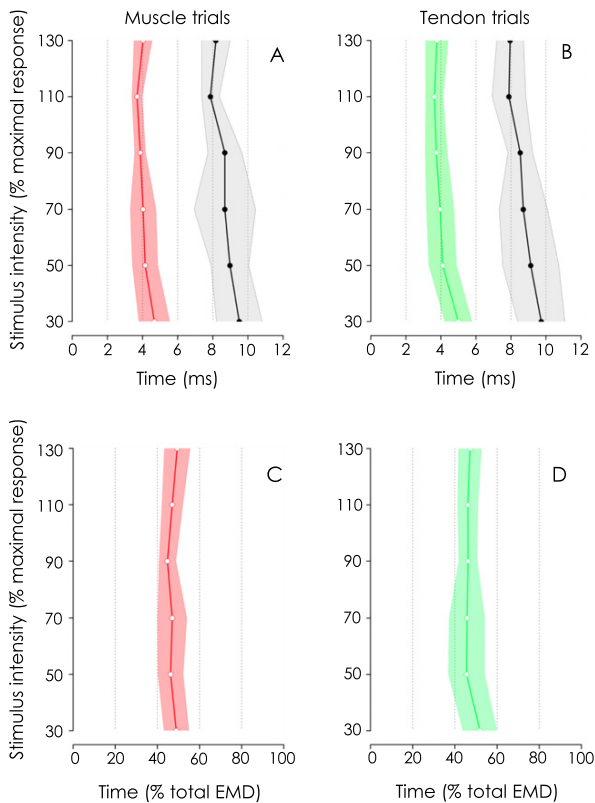


Fig. 4. Influence of stimulus intensity on onset times for muscle and tendon trials. Values are means \pm SD. Stimulus intensity (% of I_{max} , the minimal stimulation intensity required to induce maximal elbow-flexion force) related to the onset times (force in black and tissue motion) for muscle (A in red) and tendon trials (B in green). Relationship between stimulus intensity and the relative part of Dm (%) and Dt (%) on EMD appears respectively in red (C) and green (D). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

4. Discussion

The aim of the present study was to determine the effects of the electrical stimulation intensity on the different processes of EMD using very high frame rate ultrasound (Nordez et al., 2009). The results showed that the overall delays were significantly longer at very low (30% and 50% of I_{max}) compared to higher intensities. However, there were no differences among stimulus intensities from 70% to 130% I_{max} .

The I_{max} value obtained in this study has to be interpreted with caution because the potential activation of adjacent muscles (e.g., brachialis and triceps brachii) was not evaluated. Despite the use of muscle belly stimulation with small electrodes, the probability of current spread to these muscles increases with increasing stimulus intensity. For instance, the antagonist activation may limit the joint torque and influence the I_{max} value by an early occurrence of the force plateau. Nevertheless, it should be kept in mind that the aim of this study was to determine the influence of stimulus intensity on EMD and its mechanisms. Regardless of potential adjacent muscle activation we showed a significant effect of stimulus intensity that should be taken into consideration in future works.

EMD values reported herein (≈ 8.7 ms) were relatively close to those reported by Hug et al. (2011a) in the same muscle, i.e., biceps brachii (≈ 10.0 ms). However, a direct comparison between these two studies is difficult. Indeed, while the shoulder was placed in

a neutral position in Hug et al. (2011a), the shoulder was abducted at 90° in the present work (Fig. 1). This would have induced different muscle lengths and thus slightly different delays (Muraoka, 2004). The results of the present study also confirm previous results that Dm and Dt are not different for the biceps brachii (Hug et al., 2011a), while they are for the gastrocnemius medialis (Nordez et al., 2009).

The present study showed that both EMD and the onset of tissues motion (i.e., muscle fascicules and myotendinous junction) were significantly longer at very low stimulation intensities (i.e., 30% and 50% of I_{max}). This is in accordance with the results of Zhou et al. (1995) who reported a decrease in EMD as stimulus current increased (i.e., 22, 18, and 17.2 ms for 90, 120, and 150 V, respectively). However, they provided no information about the relative intensity (in % of I_{max}) which corresponded to these currents. In addition, the onset of motion of the muscle fascicule and the myotendinous junction were not measured. Overall, this dependency of EMD to extreme changes in stimulation intensity does not validate our initial hypothesis. Some works initially suggested that electrical muscle stimulation is associated with a specific recruitment of motor units with larger (fast) motor units over the recruitment of smaller ones (slow) (for review, see Gregory and Bickel, 2005). However, recent evidences points to the recruitment pattern of motor units being random and non selective, i.e., without obvious sequencing related to fiber type (Jubeau et al., 2007; Maffiuletti, 2010). Despite the fact that the motor nerves depolarized by percutaneous muscle stimulation (Hultman et al., 1983) innervate muscle fibers which spread throughout the muscle, electrical stimulation can recruit muscle fibers deep within the muscle as demonstrated with magnetic resonance imaging (Adams et al., 1993). Taken these elements together, we believe that the effect of stimulus intensity reported in the present study is due to other issues rather than differences in recruitment patterns. First, it has been shown that a strong electrical stimulus causes the muscle tension to fall before it begins to rise (Rauh, 1922; Hill, 1949; Goodall, 1958), a phenomenon known as “latency relaxation”. Based on the recording of the onset of a low frequency sound wave, Hufschmidt (1985) showed that “electro-mechanic latency” (that can be associated to Dm measured in the present work) decreased when the stimuli intensity increased due to the lack of latency relaxation with lower stimulation intensities. Because we determined Dm as the beginning of muscle motion in either direction, the latency relaxation may have influenced our results and could partly explain the observed effect of stimulation intensity on the Dm for lower intensities. Second, the increase in number of recruited motor units associated with an increase in stimulus intensity (Adams et al., 1993) is likely to increase force production rather than modify the onset of muscle motion. This greater force production and the higher rate of force development associated with the increase in stimulation intensity could have enhanced the signal-to-noise ratio which was likely to influence the detection of the onset force production.

Our results indicate that the stimulus intensity needs to be standardized to perform longitudinal evaluation and/or to make between-subject comparisons. The good inter-day reliability for EMD, Dm and Dt (i.e., CV ranged between 6.8% and 12.5%) opens interesting perspectives regarding the use of this methodology in the longitudinal assessment of muscle function. Indeed, EMD has been shown to be altered by training program (Grosset et al., 2009), neuromuscular disorders (Orizio et al., 1997), prolonged bed-rest (Kubo et al., 2000) or ligament reconstruction (Kaneko et al., 2002). It is thus promising to monitor the effects of these interventions/pathologies on each process of EMD by making within- and between-subjects comparisons.

Acknowledgements

This study was supported by a Grant from by the European Regional Development Fund (ERDF).

The authors thank Marc Jubeau for helpful discussions about muscle electrical stimulation and Jean Hug for drawing Fig. 1.

References

- Adams GR, Harris RT, Woodard D, Dudley GA. Mapping of electrical muscle stimulation using MRI. *J Appl Physiol* 1993;74:532–7.
- Catheline S, Thomas JL, Wu F, Fink MA. Diffraction field of a low frequency vibrator in soft tissues using transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 1999;46:1013–9.
- Cavanagh P, Komi P. Electromechanical delay in human skeletal muscle under concentric and eccentric contractions. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1979;42:159–63.
- Deffieux T, Gennisson JL, Tanter M, Fink M, Nordez A. Ultrafast imaging of in vivo muscle contraction using ultrasound. *Appl Phys Lett* 2006;89:184107.
- Deffieux T, Gennisson JL, Tanter M, Fink M. Assessment of the mechanical properties of the musculoskeletal system using 2-D and 3-D very high frame rate ultrasound. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2008;55:2177–90.
- Goodall MC. Dependence of latent period in muscle on strength of stimulus. *Nature* 1958;182:1736–7.
- Granata KP, Ikeda AJ, Abel MF. Electromechanical delay and reflex response in spastic cerebral palsy. *Arch Phys Med Rehabil* 2000;81:888–94.
- Gregory CM, Bickel CS. Recruitment patterns in human skeletal muscle during electrical stimulation. *Phys Ther* 2005;85:358–64.
- Grosset JF, Piscione J, Lambert D, Pérot C. Paired changes in electromechanical delay and musculo-tendinous stiffness after endurance or plyometric training. *Eur J Appl Physiol* 2009;105:131–9.
- Hodges PW, Bui BH. A comparison of computer-based methods for the determination of onset of muscle contraction using electromyography. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996;101:511–9.
- Häkkinen K, Komi P. Changes in neuromuscular performance in voluntary and reflex contraction during strength training in man. *Int J Sports Med* 1983;04:282–8.
- Hill AV. The onset of contraction. *Proc R Soc, Lond, Ser B* 1949;136:242–54.
- Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Med* 2000;30:1–15.
- Hopkins JT, Feland JB, Hunter I. A comparison of voluntary and involuntary measures of electromechanical delay. *Int J Neurosci* 2007;117:597–604.
- Hufschmidt A. Acoustic phenomena in the latent period of skeletal muscle: a simple method for in-vivo measurement of the electro-mechanic latency (EML). *Pflügers Arch* 1985;404:162–5.
- Hultman E, Sjöholm H, Jäderholm-Ek I, Krynicki J. Evaluation of methods for electrical stimulation of human skeletal muscle in situ. *Pflügers Arch* 1983;398:139–41.
- Hug F, Gallot T, Catheline S, Nordez A. Electromechanical delay in biceps brachii assessed by ultrafast ultrasonography. *Muscle Nerve* 2011a;43:441–3.
- Hug F, Lacourpaille L, Nordez A. Electromechanical delay measured during a voluntary contraction should be interpreted with caution. *Muscle Nerve* 2011b;44:838–9.
- Jubeau M, Gondin J, Martin A, Sartorio A, Maffiuletti N. Random motor unit activation by electrostimulation. *Int J Sports Med* 2007;28:901–4.
- Kaneko F, Onari K, Kawaguchi K, Tsukisaka K, Roy SH. Electromechanical delay after ACL reconstruction: an innovative method for investigating central and peripheral contributions. *J Orthop Sports Phys Ther* 2002;32:158–65.
- Kubo K, Akima H, Ushiyama J, Tabata I, Fukuoka H, Kanehisa H, et al. Effects of 20 days of bed rest on the viscoelastic properties of tendon structures in lower limb muscles. *Br J Sports Med* 2000;3:324–30.
- Linford CW, Hopkins JT, Schulthies SS, Frelund B, Draper DO, Hunter I. Effects of neuromuscular training on the reaction time and electromechanical delay of the peroneus longus muscle. *Arch Phys Med Rehabil* 2006;87:395–401.
- Maffiuletti NA. Physiological and methodological considerations for the use of neuromuscular electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol* 2010;110:223–34.
- Moore BD, Drouin J, Gansnedder BM, Shultz SJ. The differential effects of fatigue on reflex response timing and amplitude in males and females. *J Electromyogr Kinesiol* 2002;12:351–60.
- Muraoka T. Influence of tendon slack on electromechanical delay in the human medial gastrocnemius in vivo. *J Appl Physiol* 2004;96:540–4.
- Muro M, Nagata A. The effects on electromechanical delay of muscle stretch of the human triceps surae. In: Winter DA, Norman RW, Wells RP, Hayes KC, Palta AE, editors. *Biomechanics IX-A*. Champaign: Human Kinetics; 1985. p. 86–90.
- Nordez A, Gallot T, Catheline S, Guevel A, Cornu C, Hug F. Electromechanical delay revisited using very high frame rate ultrasound. *J Appl Physiol* 2009;106:1970–5.
- Orizio C, Esposito F, Paganotti I, Marino L, Rossi B, Veicsteinas A. Electrically-elicited surface mechanomyogram in myotonic dystrophy. *Ital J Neurol Sci* 1997;18:185–90.
- Rauh F. Die Latenzzeit des Muskelements. *Z Biol* 1922;76:25.
- Sasaki K, Sasaki T, Ishii N. Acceleration and force reveal different mechanisms of electromechanical delay. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43:1200–6.
- Yavuz SU, Sendemir-Ürkmez A, Türker KS. Effect of gender, age, fatigue and contraction level on electromechanical delay. *J Clin Neurophysiol* 2010;121:1700–6.
- Zhou S, Lawson DL, Morrison WE, Fairweather I. Electromechanical delay in isometric muscle contractions evoked by voluntary, reflex and electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995;70:138–45.



Lilian Lacourpaille received a M.Sc. degree in Sports science in 2011 from the University of Nantes (France). He is currently a Ph.D. student in sports science at the University of Nantes in the laboratory "Motricité, Interactions, Performance" – EA 4334, under the supervision of Antoine Nordez and François Hug. His doctoral work focuses on the use of both electromechanical delay and elastography to assess muscle function in both healthy and pathological subjects.



Antoine Nordez received his Ph.D. degree in sports sciences from the University of Nantes (France) in 2006. In 2004–2005, he was in a post-doctoral position at the Laboratory of Biomechanics (Arts et Métiers ParisTech). Since 2009, he is assistant professor at the University of Nantes (France) in the laboratory "Motricité, Interactions, Performance" – EA 4334. He is the (co-) author of about 40 peer reviewed international publications. His primary research interests focus on muscle-tendon biomechanics.



François Hug received his Ph.D. in Human Movement Sciences from the University of Aix-Marseille II (France) in 2003. In 2004–2005, he was in a post-doctoral position at the University Paris VI (France). In 2005–2006, he was researcher at the National Institute for Sports (INSEP, France). Since 2006, he is associate professor at the University of Nantes (France) in the laboratory "Motricité, Interactions, Performance" – EA 4334. He is the (co-) author of about 60 peer reviewed international publications. His primary research interests focus on muscle coordination and muscle biomechanics (e.g., electromechanical delay, estimation of individual muscle force). Since 2009, he serves on the editorial board of

Journal of Electromyography and Kinesiology.

ÉTUDE #3

Nouvelle approche de l'efficacité de la contraction musculaire chez les patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne

Publication associée

Lacourpaille L., Hug F., Guével A., Péréon Y., Magot A., Hogrel JY., & Nordez A. (2014)

NEW INSIGHTS ON CONTRACTION EFFICIENCY IN PATIENTS WITH DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY.

Journal of Applied Physiology, 117(6):658-662.

INTRODUCTION

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une des maladies dégénératives les plus graves, caractérisée par l'absence de dystrophine (Hoffman et al., 1987). La dystrophine a pour rôle, avec d'autres protéines, de lier les filaments d'actine à la matrice extracellulaire *via* le sarcolemme (Ervasti, 2007). Elle est essentielle pour transmettre la force générée par les protéines contractiles (Tidball, 1991). L'absence de *dystrophine* conduit inévitablement à une nécrose des cellules musculaires (Bell et Conen, 1968) et une diminution importante des capacités de production de force (Lynch et al., 2001 ; Cornu et al., 2001). Cette altération de la force maximale produite est aussi observée lorsque l'on normalise celle-ci par la quantité de tissu contractile (i.e., force spécifique ; Wokke et al., 2014). Ceci peut être principalement expliqué par la réduction du nombre d'unités motrices actives (McComas et al., 1971, 1977), toutefois, certains auteurs suggèrent l'implication concomitante de mécanismes électrochimiques et mécaniques (Watchko et al., 2002; Ramaswamy et al., 2011).

En effet, au delà de principales conséquences de la DMD, certaines études conduites sur la souris *mdx* (« *X-linked muscular dystrophy* » : modèle murin de la maladie), démontrent une altération de la transmission de force longitudinale (Claflin et Brooks, 2008) et transversale (Ramaswamy et al., 2011). De même, plusieurs études rapportent un dysfonctionnement du couplage excitation-contraction chez ce même modèle (Woods et al., 2005) et la souris *mdx* dépourvu d'*utrophine* (*utr*^{-/-}/*mdx* ; Capote et al., 2010). Cependant, probablement à cause de l'absence de méthodes expérimentales non-invasives, ces processus n'ont pas été évalués chez des patients atteints de la DMD. La méthodologie basée sur l'échographie ultrarapide permettant d'investiguer ces processus électrochimiques et mécaniques (*cf.* études #1 et #2) représente actuellement l'unique opportunité d'évaluer *in vivo* et de manière non invasive les effets de la DMD sur les processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans la production de force musculaire.

L'objectif de cette étude est donc de quantifier l'effet de la DMD sur les contributions relatives des processus électrochimiques (principalement la transmission synaptique et le couplage excitation-contraction) et mécaniques (principalement la transmission de force) impliquées dans le DEM du *biceps brachii* (BB). Nous faisons l'hypothèse d'une augmentation globale du DEM chez les patients par rapport aux sujets contrôles, associée à un allongement du temps nécessaire aux processus électrochimiques et mécaniques.

MATÉRIELS & MÉTHODE

Cette étude a été conduite sur 14 patients atteints de la DMD [âge: $13,3 \pm 5,9$ ans (entre 5 et 22 ans); taille: $141 \pm 2,5$ cm; poids: $40,5 \pm 21,1$ kg] et 13 sujets contrôles (i.e., non-malades) [âge: $12,8 \pm 5,5$ years (entre 6 et 24 ans); taille: $150 \pm 2,0$ cm; poids: $43,8 \pm 17,3$ kg]. À la suite d'une rampe de stimulation, deux contractions du BB ont été électriquement évoquées à 70% de l'intensité maximale de stimulation. Durant celles-ci, la sonde échographie a été placée sur le « ventre » du BB. Compte tenu de l'épaisseur de la couche adipeuse sous cutanée et de l'atrophie musculaire présentent chez les patients atteints de la DMD, l'identification de la jonction myotendineuse n'était pas suffisamment précise et aucune mesure n'a donc été effectuée au niveau de cette structure. Le délai entre l'artéfact de stimulation et le début de mouvement des fascicules (Dm), le délai entre le mouvement des fascicules et le début de production de force (Tm), et le délai entre l'artéfact de stimulation et le début de production du force ont été caractérisés (DEM).

RÉSULTATS

Le couple maximal évoqué était considérablement réduit chez les patients atteints de DMD ; il représente $10,4 \pm 5,9$ % du couple développé par les sujets contrôles (tableau 3). Comme supposé, le DEM était significativement augmenté chez les patients par rapport aux sujets contrôles ($+ 44,2 \pm 30,6$ %; $P < 0,0001$; tableau 3). Toutefois, cet allongement du DEM n'était pas associé à une modification du Dm (i.e., processus électrochimiques, $P = 0,28$).

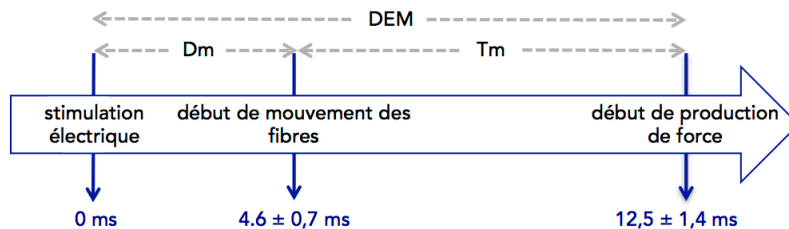
Tableau 3. Données moyennes des patients atteints de la DMD et des sujets contrôles.

	Couple maximal évoqué (N.m)	DEM (ms)	Dm (ms)	Tm (ms)
Contrôles (n=13)	$2,8 \pm 1,7$	$12,5 \pm 1,4$	$4,6 \pm 0,7$	$7,9 \pm 2,0$
DMD (n=13*)	$0,3 \pm 0,2^*$	$18,5 \pm 3,9^*$	$4,9 \pm 1,7$	$13,6 \pm 3,1^*$

Les données sont exprimées en valeurs moyenne \pm écart-type. DEM : délai entre l'artéfact de stimulation et le début de production du force; Dm : délai entre l'artéfact de stimulation et le début de mouvement des fascicules ; Tm : délai entre le mouvement des fascicules et le début de production de force. *: différence significative entre les deux populations. Le sujet #11 n'est pas parvenu à se « relâcher » suffisamment avant la stimulation électrique pour pouvoir être inclut dans l'étude.

En revanche, le délai entre le début de mouvement des fascicules du BB et le début de production de force (T_m) était significativement plus long chez les patients atteints de la DMD par rapport aux sujets contrôles ($+ 72,7 \pm 39,3 \%$) (figure 28).

A. Sujets contrôles



B. Patients DMD

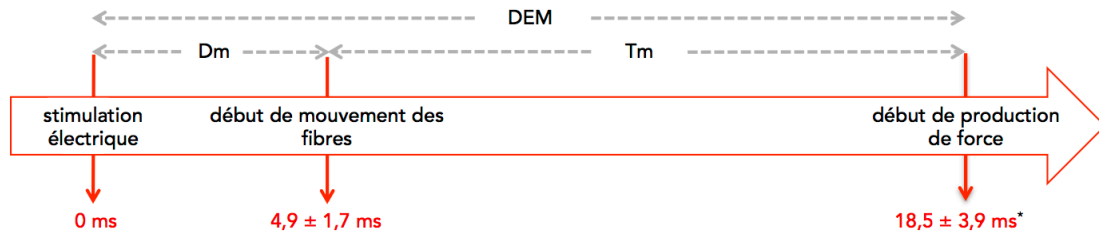


Figure 28 : Représentation du délai électromécanique (DEM) et de ses composantes électrochimiques (D_m) et mécaniques (T_m). Délai entre le début de l'artéfact de stimulation et le début de mouvement des fascicules musculaires (D_m), puis entre le début de mouvement des fibres musculaires et le début de production de force (T_m) pour les sujets contrôles (A) et les patients atteints de la DMD (B).

En outre, nous avons observé une corrélation linéaire entre T_m et l'âge du patient ($r=0,66$), tandis qu'aucune relation significative n'est observée chez la population contrôle (figure 29). Cette relation suggère donc que la transmission de la force est progressivement altérée au cours de la maladie.

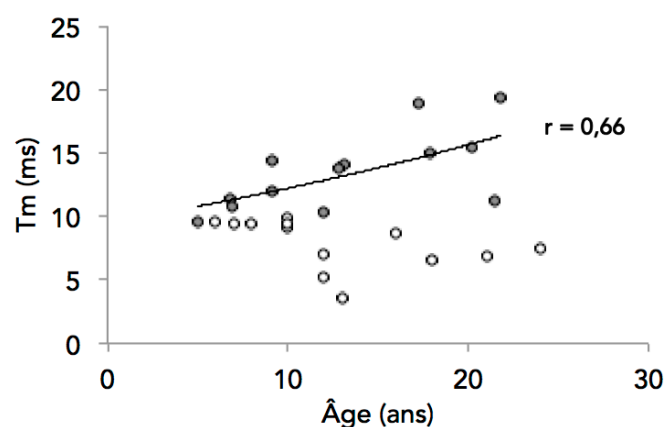


Figure 29 : Relation entre Tm et l'âge chronologique pour les deux populations. Tm : délai entre le mouvement des fascicules et le début de production de force. Les patients atteints de DMD et les sujets contrôles sont respectivement matérialisés par des cercles gris et blanc.

CONCLUSION

La méthodologie non-invasive utilisée dans cette étude a permis de mettre en évidence l'altération du délai entre le début de mouvement des fascicules et le début de production de force des patients atteints de la DMD. Cette altération de la transmission de force chez les patients atteints de la DMD évolue avec l'âge, soulignant sa potentielle contribution dans la faiblesse musculaire caractéristique de cette pathologie. En revanche, le délai entre le début d'activité électrique et le début de mouvement des fascicules musculaires n'est pas modifié. De futures investigations (e.g., études longitudinales) sont toutefois nécessaires afin de déterminer si cette méthodologie peut être utilisée pour améliorer le suivi des patients au cours de la maladie, ou plus particulièrement lors d'un essai clinique.

New insights on contraction efficiency in patients with Duchenne muscular dystrophy

Lilian Lacourpaille,¹ François Hug,^{1,2} Arnaud Guével,¹ Yann Péréon,^{3,4} Armelle Magot,^{3,4} Jean-Yves Hogrel,⁵ and Antoine Nordez¹

¹Laboratory Motricité, Interactions, Performance (EA 4334), Unité de Formation et de Recherche Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives, University of Nantes, Nantes, France; ²National Health and Medical Research Council, Centre of Clinical Research Excellence in Spinal Pain, Injury and Health, School of Health and Rehabilitation Sciences, University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia; ³Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Nantes-Angers, University of Nantes, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France; ⁴Atlantic Gene Therapies, Nantes, France; and ⁵Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Submitted 23 June 2014; accepted in final form 29 July 2014

Lacourpaille L, Hug F, Guével A, Péréon Y, Magot A, Hogrel JY, Nordez A. New insights on contraction efficiency in patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Appl Physiol* 117: 658–662, 2014. First published August 7, 2014; doi:10.1152/jappphysiol.00544.2014.—The decrease in muscle strength in patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD) is mainly explained by a decrease in the number of active contractile elements. Nevertheless, it is possible that other electrochemical and force transmission processes may contribute. The present study aimed to quantify the effect of DMD on the relative contribution of electrochemical and force transmission components of the electromechanical delay (i.e., time lag between the onset of muscle activation and force production) in humans using very high frame rate ultrasound. Fourteen patients with DMD and thirteen control subjects underwent two electrically evoked contractions of the biceps brachii with the ultrasound probe over the muscle belly. The electromechanical delay was significantly longer in DMD patients compared with controls (18.5 ± 3.9 vs. 12.5 ± 1.4 ms, $P < 0.0001$). More precisely, DMD patients exhibited a longer delay between the onset of muscle fascicles motion and force production (13.6 ± 3.1 vs. 7.9 ± 2.0 ms, $P < 0.0001$). This delay was correlated to the chronological age of the DMD patients ($r = 0.66$; $P = 0.01$), but not of the controls ($r = -0.45$; $P = 0.10$). No significant difference was found for the delay between the onset of muscle stimulation and the onset of muscle fascicle motion. These results highlight the role of the alteration of muscle force transmission (delay between the onset of fascicle motion and force production) in the impairments of the contraction efficiency in patients with DMD.

myopathy; force; ultrasound; electromechanical delay

DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY (DMD) is one of the most severe degenerative muscle diseases characterized by a lack of dystrophin (14). Dystrophin is a protein that has a role, with other proteins, to laterally link actin filaments through the sarcolemma to the extracellular matrix (10). It is essential for the transmission of the force generated by contractile proteins (34, 35). An absence of dystrophin ultimately leads to contractile tissue wastage (27) and thus to a dramatic decrease in maximal force-generating capacity (21). This is even observed when maximal strength is normalized to muscle contractile cross-sectional area, illustrating an impairment of muscle quality (37). This alteration is mainly explained by a decrease in the

number of active contractile elements for a given muscle volume, due to fiber necrosis (1). Still, it is plausible that other electrochemical and mechanical processes might further alter the contraction efficiency.

In addition to the main muscle structural consequence of DMD, it has been shown that both muscle (12) and tendon (32) mechanical properties are altered in X-linked muscular dystrophy mice model (*mdx*). As both structural and mechanical properties may play an important role in force transmission (12, 17, 32), the efficiency of force transmission from the actomyosin cross bridges to the tendons is presumed to be altered in patients with DMD (24). The alteration of contraction efficiency in DMD patients might also be related to an alteration of electrochemical processes, as suggested by the impairment of excitation-contraction coupling reported in *mdx* mice (38). Because of the lack of experimental *in vivo* techniques, the effect of DMD on both muscle force transmission and excitation-contraction coupling in humans is still unknown. This information is particularly relevant for 1) a better understanding of the physiopathology of DMD; 2) an improvement of the methods used to follow the patients throughout the progression of their disease; and 3) the assessment of the efficacy of new therapies.

Electromechanical delay (EMD) is the time lag between onsets of muscle activation and force production (4). The relative contribution of both electrochemical (synaptic transmission, excitation-contraction coupling) and mechanical components (force transmission) to EMD has been recently characterized in humans using very high frame rate ultrasound (15, 18, 19, 26) and mechanomyography (5, 30, 33). More precisely, the delay between muscle electrical stimulation and the onset of muscle fascicle motion is mainly attributed to electrochemical processes [referred to as time delay for muscle contraction (Dm)]. The delay between the onset of fascicle motion and the onset of force production is attributed to the force transmission [referred to as time delay for force transmission (Tm)] (Fig. 1). This method is a unique opportunity to quantify *in vivo* and noninvasively the effects of DMD on both electrochemical and mechanical processes of muscle contraction and indirectly estimate the efficiency of muscle force production.

The aim of the present study was to determine the effect of DMD on the relative contribution of electrochemical (mainly synaptic transmission and excitation-contraction coupling) and mechanical (force transmission) components to the EMD in the

Address for reprint requests and other correspondence: F. Hug, Univ. of Nantes, Laboratory Motricité, Interactions, Performance (EA 4334), 25 bis boulevard Guy Mollet, BP 72206, 44322 Nantes cedex 3, France (e-mail: francois.hug@univ-nantes.fr).

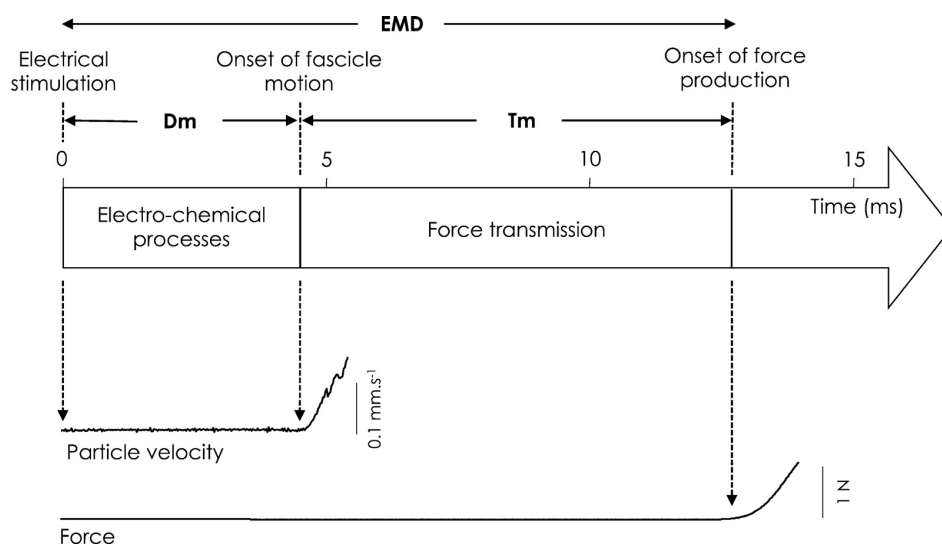


Fig. 1. Representation of the electromechanical delay (EMD) and its components. The delay between muscle electrical stimulation and the onset of muscle fascicle motion (particle velocity) is mainly attributed to electrochemical processes [referred to as time delay for muscle contraction (Dm)]. The delay between the onset of fascicle motion and the onset of force production is attributed to the force transmission [referred to as time delay for force transmission (Tm)].

biceps brachii (BB) muscle. We hypothesized that EMD would be increased in patients with DMD compared with controls, due to an increase in the time required for both electrochemical and mechanical processes.

METHODS

Participants

Fourteen (genetically confirmed) DMD patients [age: 13.3 ± 5.9 yr (range: 5–22 yr); height: 1.41 ± 0.25 m; body mass: 40.5 ± 21.1 kg] and thirteen age-matched healthy controls [age: 12.8 ± 5.5 yr (range: 6–24 yr); height: 1.50 ± 0.20 m; body mass: 43.8 ± 17.3 kg] volunteered to participate in the present study. The medication provided to the DMD patients as part of their standard care management is listed in Table 1. Two patients were receiving corticosteroid therapy that is known to improve muscle strength in the short term (for review, see Ref. 22). Two patients were receiving muscle relaxants (thiocolchicoside), which are known to increase muscle flexibility (16, 31). Six patients were receiving cardiovascular drugs (angiotensin-converting enzyme). Finally, six and five patients were receiving calcium and vitamin D supplementation, respectively. Neither cardiovascular drugs nor calcium/vitamin D supplementation has a significant impact on neuromuscular function. All of the children and their legal guard-

ians were informed of the purpose of the study and the potential discomfort associated with the experimental procedures before giving their written consent. The local ethics committee approved the study (CPP Nantes Ouest IV–CPP-MIP-004), and all of the procedures conformed to the Declaration of Helsinki.

Instrumentation

Force. Participants were seated with their right shoulder abducted (90°), elbow flexed at 90° with their wrist in a neutral position. To measure the force produced during elbow flexion, a force transducer (SML-50, range: 0–50 lbf, insensitivity: 2 mV/V, Interface) was incorporated in a homemade ergometer and connected with Velcro straps to the wrist to ensure constant contact. The force signal was digitized at a sampling rate of 5 kHz (MP36, BIOPAC, Goleta).

Electrical stimulation. Percutaneous electrical stimulation was applied over the BB to elicit its contraction. A constant-current stimulator (Digitimer DS7A, Digitimer, Letchworth Garden City, UK) delivered a single electrical pulse (pulse duration = 200 μ s, 400 V) through two electrodes (2×1.5 cm, Compex, Annecy-le-Vieux, France) placed on the main motor point (previously determined as the location inducing the strongest twitch with the lowest electrical stimulation) and on the distal portion of BB. To determine the stimulation intensity required to induce the maximal elbow flexion

Table 1. Individual data for DMD patients

DMD Patient No.	ACE	Corticosteroids	Thiocolchicoside	Calcium	Vitamin D	EMD, ms	Dm, ms	Tm, ms
1			X	X	X	15.8	3.7	12.1
2				X	X	18.4	4.6	13.8
3	X			X	X	18.2	4.1	14.1
4						17.9	3.5	14.4
5						14.4	4.7	9.7
6	X					14.5	3.2	11.3
7		X		X	X	17.1	5.7	11.4
8	X					20.2	4.6	15.6
9			X	X	X	18.5	8.1	10.4
10	X					24.2	5.3	18.9
12	X					20.2	5.1	15.1
13		X		X		13.8	3.0	10.8
14	X					27.6	8.2	19.4

For each Duchenne muscular dystrophy (DMD) patient, both medications provided as part of their standard care management and data on electromechanical delay (and its processes) are depicted. ACE, angiotensin-converting enzyme; EMD, electromechanical delay; Dm, time delay for muscle contraction; Tm, time delay for mechanical force transmission. EMD measurements were not taken for patient 11.

force (I_{max}), the output current was increased (incremental step of 5 mA) until a maximum force output (or a maximum tolerable current output) was reached.

Ultrasonography. A very high frame rate ultrasound scanner (Aixplorer, version 7, Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France), coupled with a linear transducer array (4–15 MHz, SuperLinear 15–4, Vermon, Tours, France) was used in “research” mode to acquire raw radio-frequency signals at 4 kHz. Force and ultrasound data were synchronized using transistor-transistor logic pulses, as previously described (18, 19).

Protocol

After taking elastographic recordings to assess muscle stiffness (Lacourpaille et al., unpublished observations), two contractions of BB were electrically evoked at 70% of I_{max} previously determined (see above). This submaximal intensity was chosen to limit the discomfort associated with the stimulation and because we previously demonstrated that the EMD was not affected by an increase in stimulus intensity above 70% of I_{max} (19). During the two electrically evoked contractions, the ultrasound probe was placed over the BB muscle belly, parallel to the muscle fascicles. Participants were instructed to be fully relaxed before each stimulation.

Data Analysis

Data processing of very high frame rate ultrasound device was performed using Matlab scripts (The Mathworks, Natick, MA). The ultrasound B-mode images were used to determine the region of interest for each contraction (i.e., between the two aponeurosis of the BB muscle) (19). The displacements along the ultrasound beam axis were calculated using a one-dimensional cross correlation of the windows of consecutive radio-frequency signals (3, 9). Thus the tissue motion between the two consecutive images (i.e., particle velocity) was measured with micrometric precision. Displacements were then averaged over the previously determined region of interest, and these averaged signals were used to detect the onset of muscle motion. As previously described in Lacourpaille et al. (18, 19), the detection of the onset of both muscle fascicle motion and external force production was defined visually. We defined the EMD as the time lag between the onset of the electrical stimulation (i.e., artifact of stimulation) and the onset of force production (15, 18, 19, 26). Then delays between the onset of electrical stimulation and the onset of muscle fascicle motion (Dm) and between the onset of fascicle motion and the onset of force production (Tm) were calculated (Fig. 1). These delays have shown a good interday reproducibility in healthy participants (SE of measurement = 0.66 and 0.51 ms, and coefficient of variation = 6.8 and 12.4% for EMD and Dm, respectively; Ref. 19).

Statistical Analysis

All analyses were performed with Statistica Version 7.0 (StatSoft, Tulsa, OK). Data distributions consistently passed the Kolmogorov-Smirnov normality test, and thus all data are reported as means \pm SD. The level of significance was set at $\alpha < 0.05$.

The mean maximal electrically evoked torque was compared between the two populations (DMD and control subjects) with a Student *t*-test. Because Tm was dependent on both EMD and Dm (Tm = EMD – Dm), three separate Student's *t*-tests were used to test whether EMD, Dm, and Tm were different between populations (DMD patients and control subjects). Finally, correlation analyses (Bravais-Pearson) were performed for each population to determine whether torque, EMD, Dm, or Tm were correlated to chronological age.

RESULTS

EMD measurements based on electrically evoked contractions were not taken for one DMD patient (*patient 11*). Thus this part of the protocol includes 13 DMD patients.

The mean I_{max} was 86.7 ± 20.0 and 83.5 ± 18.0 mA for controls and DMD patients, respectively. The results of maximal torque production, EMD, Dm, and Tm are shown in Table 1 (individual data for DMD patients) and Table 2 (averaged data). Maximal electrically evoked elbow flexion torque was significantly lower for DMD patients, representing $10.4 \pm 5.9\%$ of the torque values measured in control subjects ($P < 0.0001$). Although no significant correlation was found between the chronological age and torque for DMD patients ($r = -0.14$; $P = 0.65$), a significant positive correlation was found for healthy controls ($r = 0.90$; $P < 0.0005$).

EMD was significantly longer in DMD patients compared with healthy controls ($+44.2 \pm 30.6\%$; $P < 0.0001$; Table 2). More precisely, DMD patients exhibited longer Tm ($+72.6 \pm 39.3\%$; $P < 0.0001$), while no significant difference was found for Dm ($P = 0.28$; Table 2). EMD and Tm were strongly correlated to the chronological age of the DMD patients ($r = 0.62$, $P = 0.02$; $r = 0.66$, $P = 0.01$ for EMD and Tm, respectively), but not of the controls ($r = -0.28$, $P = 0.35$; $r = -0.45$, $P = 0.10$ for EMD and Tm, respectively) (Fig. 2). A significant positive correlation was found between Dm and chronological age of the control subjects ($r = 0.70$, $P = 0.01$), while no significant correlation was found for DMD patients ($r = 0.26$, $P = 0.4$).

DISCUSSION

This study explored the effect of DMD on EMD and its associated electrochemical/mechanical components. DMD patients exhibit longer delay between the onset of fascicle motion and the onset of force production (representative of an altered force transmission) compared with control subjects. No significant difference was found for the delay between the onset of electrical stimulation and the onset of muscle fascicle shortening (i.e., electrochemical processes). Because the increased BB stiffness reported in the same population of DMD patients (Lacourpaille et al., unpublished observations) should theoretically improve transmission of force (24), the altered force transmission we report (longer Tm) is likely explained by structural abnormalities (e.g., the absence of dystrophin, sarcomere disconnections, detached fibers from tendons) rather than changes in muscle stiffness.

Maximal electrically evoked elbow flexion torque was considerably lower for DMD patients compared with the control subjects (10.4% of the values for healthy controls). Muscle weakness is mainly explained by the loss of contractile ele-

Table 2. Averaged data for healthy controls and DMD patients

	<i>n</i>	Evoked Maximal Torque, N·m	EMD, ms	Dm, ms	Tm, ms
Controls	13	2.8 ± 1.7	12.5 ± 1.4	4.6 ± 0.7	7.9 ± 2.0
DMD	13	$0.3 \pm 0.2^*$	$18.5 \pm 3.9^*$	4.9 ± 1.7	$13.6 \pm 3.1^*$

Values are means \pm SD; *n*, no. of subjects. Evoked maximal torque, EMD, Dm, and Tm values are shown for control subjects (Controls) and DMD patients (DMD). * $P < 0.05$, significant difference between the populations.

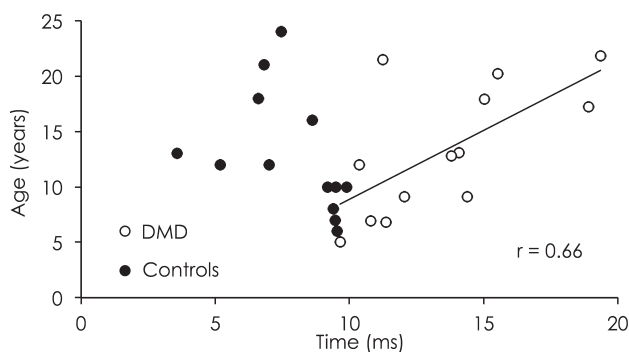


Fig. 2. Relation between force transmission (T_m) and age for both populations. Relationship is shown between the delay between onset of muscle fiber motion and onset of force production (T_m ; ms) and the chronological age (years) of Duchenne muscular dystrophy (DMD) patients (○) and control subjects (●).

ments. Nevertheless, as mentioned in the Introduction, the origin of the impairments of muscle quality (i.e., maximal strength normalized by contractile cross-sectional area) is a matter of debate (37). Several factors may be responsible for this change, e.g., myofiber necrosis and changes in electrochemical (e.g., excitation-contraction coupling) and/or mechanical mechanisms (e.g., force transmission) responsible for the external force production.

DMD muscle fibers (*mdx* mice or double knockout mouse for utrophin and dystrophin) exhibit a significant impairment of excitation-contraction coupling (2, 38). More precisely, the quantity of Ca^{2+} released by the sarcoplasmic reticulum is decreased by $\approx 50\%$ in DMD muscle fibers (2, 38), which contributes to muscle weakness (11, 20). Using very high frame rate ultrasound, the present study demonstrates that the delay between electrical stimulation and onset of muscle fascicle shortening (D_m) is not different in DMD patients compared with healthy controls. As this delay is principally attributed to synaptic transmission and excitation-contraction coupling (15, 26), this result suggests that the efficiency of the excitation-contraction coupling might be affected independently of its duration. This is in line with a previous animal study showing that the time to release the maximal quantity of Ca^{2+} is not affected (≈ 4 ms; Ref. 38). It is also important to consider that this absence of change in excitation-contraction coupling duration might be explained by a compensation between multiple mechanisms [e.g., longer time to saturate the Ca^{2+} -troponin C complex (38) and shorter time for cross-bridge attachment (6)].

The muscle force transmission from actin-myosin interaction to the bone may be influenced by several pathways (28), including the sarcolemma-associated cytoskeletal protein dystrophin (24). This assumption has been corroborated by *ex vivo* studies showing that both lateral (29) and longitudinal (6) force transmission are altered in *mdx* mice. To our knowledge, this alteration in force transmission has not been quantified *in vivo*. Consistent with the aforementioned studies, our results showed that DMD patients exhibit a longer delay between the onset of fascicle motion and the onset of force production (T_m) compared with healthy controls (+72.7%). Also, we showed a positive linear relationship between the age of DMD patients and T_m ($r = 0.66$), underlining the degenerative nature of this process and thus the relevance of its assessment to monitoring

disease progression. These results confirm that the absence of dystrophin in DMD patients may lead to an increase in the time to transmit the force from actin filaments to the tendon (i.e., impairment of the longitudinal and lateral force transmission pathways; Refs. 6, 29). This result may be partly explained by muscle structural abnormalities at two levels. First, in healthy skeletal muscle, dystrophin binds actin filaments to the extracellular matrix through the sarcolemma and is more densely distributed at the myotendinous junction (23). These results support the role of dystrophin for force transmission from the cytoskeleton to extracellular matrix at the level of both muscle sarcomere and the myotendinous junction (36). Second, structural abnormalities such as sarcomere disconnections (8), malformed/branched fibers (13), and detached fibers from tendons (13), may lead to an alteration of the longitudinal transmission from the force-generating structures to the myotendinous junction.

Due to the loss of regenerative capacity, DMD patient muscle fibers are gradually replaced by fibrous tissue, associated with calcium homeostasis perturbation [reviewed by Blake et al. (1)] and predominance of type I fibers (25). Together, this may contribute to the increased muscle-tendon stiffness reported in humans during quick release movements (7). Using a more direct assessment of stiffness, we found a significant higher BB muscle stiffness in DMD patients compared with healthy controls [2 times higher when the muscle was stretched (Lacourpaille et al., unpublished observations)]. As an increase in muscle-tendon stiffness should be associated with a more efficient muscle force transmission, the impairment of force transmission reported in this present study is likely explained by muscle structural abnormalities rather than altered muscle stiffness.

The noninvasive techniques used in this study offer a unique opportunity to assess muscle force transmission in patients with DMD (delay between the onset of fascicle motion and force production), contributing to a better understanding of the origin of the impairments of muscle weakness in DMD. Further investigations are necessary to determine whether this information has the potential to improve the accuracy (i.e., local measurements) and relevance (i.e., focusing on the main process altered in DMD) of patient monitoring, especially in clinical trials.

GRANTS

The study was sponsored by grants from the European Regional Development Fund (no. 37400), the French Muscular Dystrophy association (contract no. 14597), and the Region des Pays de la Loire.

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the author(s).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Author contributions: L.L., F.H., A.G., Y.P., J.Y.H., and A.N. conception and design of research; L.L., A.G., Y.P., A.M., and A.N. performed experiments; L.L. analyzed data; L.L., F.H., Y.P., J.Y.H., and A.N. interpreted results of experiments; L.L. prepared figures; L.L., F.H., and A.N. drafted manuscript; L.L., F.H., A.G., Y.P., A.M., J.Y.H., and A.N. edited and revised manuscript; L.L., F.H., A.G., Y.P., A.M., J.Y.H., and A.N. approved final version of manuscript.

REFERENCES

1. Blake DJ, Weir A, Newey SE, Davies KE. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiol Rev* 82: 291–329, 2002.

2. Capote J, DiFranco M, Vergara JL. Excitation-contraction coupling alterations in mdx and utrophin/dystrophin double knockout mice: a comparative study. *Am J Physiol Cell Physiol* 298: C1077–C1086, 2010.
3. Catheline S, Gennisson JL, Delon G, Fink M, Sinkus R, Abouelkaram S, Culioli J. Measurement of viscoelastic properties of homogeneous soft solid using transient elastography: An inverse problem approach. *J Acoust Soc Am* 116: 3734–3741, 2004.
4. Cavanagh P, Komi P. Electromechanical delay in human skeletal muscle under concentric and eccentric contractions. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 42: 159–163, 1979.
5. Cè E, Rampichini S, Limonta E, Esposito F. Fatigue effects on the electromechanical delay components during the relaxation phase after isometric contraction. *Acta Physiol (Oxf)* 211: 82–96, 2014.
6. Claffin DR, Brooks SV. Direct observation of failing fibers in muscles of dystrophic mice provides mechanistic insight into muscular dystrophy. *Am J Physiol Cell Physiol* 294: C651–C658, 2008.
7. Cornu C, Goubel F, Fardeau M. Muscle and joint elastic properties during elbow flexion in Duchenne muscular dystrophy. *J Physiol* 533: 605–616, 2001.
8. Cullen MJ, Fulthorpe JJ. Stages in fibre breakdown in Duchenne muscular dystrophy. An electron-microscopic study. *J Neurol Sci* 24: 179–200, 1975.
9. Deffieux T, Gennisson JL, Tanter M, Fink M, Nordez A. Ultrafast imaging of in vivo muscle contraction using ultrasound. *Appl Phys Lett* 89: 184107, 2006.
10. Ervasti J. Dystrophin, its interactions with other proteins, and implications for muscular dystrophy. *Biochim Biophys Acta* 1772: 108–117, 2007.
11. Godt RE. Calcium-activated tension of skinned muscle fibers of the frog. Dependence on magnesium adenosine triphosphate concentration. *J Gen Physiol* 63: 722–739, 1974.
12. Hakim CH, Grange RW, Duan D. The passive mechanical properties of the extensor digitorum longus muscle are compromised in 2- to 20-mo-old mdx mice. *J Appl Physiol* 110: 1656–1663, 2011.
13. Head SI, Williams DA, Stephenson DG. Abnormalities in structure and function of limb skeletal muscle fibres of dystrophic mdx mice. *Proc Biol Sci* 248: 163–169, 1992.
14. Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell* 51: 919–928, 1987.
15. Hug F, Gallot T, Catheline S, Nordez A. Electromechanical delay in biceps brachii assessed by ultrafast ultrasonography. *Muscle Nerve* 43: 441–443, 2011.
16. Ketenci A, Ozcan E, Karamursel S. Assessment of efficacy and psychomotor performances of thiocholchicoside and tizanidine in patients with acute low back pain. *Int J Clin Pract* 59: 764–770, 2005.
17. Kubo K, Kanehisa H, Kawakami Y, Fukunaga T. Effects of repeated muscle contractions on the tendon structures in humans. *Eur J Appl Physiol* 84: 162–166, 2001.
18. Lacourpaille L, Hug F, Nordez A. Influence of passive muscle tension on electromechanical delay in humans. *PLoS One* 8: e53159, 2013.
19. Lacourpaille L, Nordez A, Hug F. Influence of stimulus intensity on electromechanical delay and its mechanisms. *J Electromyogr Kinesiol* 23: 51–55, 2013.
20. Law DJ, Tidball JG. Dystrophin deficiency is associated with myotendinous junction defects in pre-necrotic and fully regenerated skeletal muscle. *Am J Pathol* 142: 1513–1523, 1993.
21. Lynch GS, Hinkle RT, Chamberlain JS, Brooks SV, Faulkner JA. Force and power output of fast and slow skeletal muscles from mdx mice 6–28 months old. *J Physiol* 535: 591–600, 2001.
22. Manzur AY, Kuntzer T, Pike M, Swan A. Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy. *Cochrane Database Syst Rev* 23: CD003725, 2008.
23. Masuda T, Fujimaki N, Ozawa E, Ishikawa H. Confocal laser microscopy of dystrophin localization in guinea pig skeletal muscle fibers. *J Cell Biol* 119: 543–548, 1992.
24. Monti RJ, Roy RR, Hodgson JA, Reggie Edgerton V. Transmission of forces within mammalian skeletal muscles. *J Biomech* 32: 371–380, 1999.
25. Nonaka I, Takagi A, Sugita H. The significance of type 2C muscle fibers in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 4: 326–333, 1981.
26. Nordez A, Gallot T, Catheline S, Guével A, Cornu C, Hug F. Electromechanical delay revisited using very high frame rate ultrasound. *J Appl Physiol* 106: 1970–1975, 2009.
27. Nowak KJ, Davies KE. Duchenne muscular dystrophy and dystrophin: pathogenesis and opportunities for treatment. *EMBO Rep* 5: 872–876, 2004.
28. Patel TJ, Lieber RL. Force transmission in skeletal muscle: from actomyosin to external tendons. *Exerc Sport Sci Rev* 25: 321–363, 1997.
29. Ramaswamy KS, Palmer ML, van der Meulen JH, Renoux A, Kostrominova TY, Michele DE, Faulkner JA. Lateral transmission of force is impaired in skeletal muscles of dystrophic mice and very old rats. *J Physiol* 589: 1195–1208, 2011.
30. Rampichini S, Cè E, Limonta E, Esposito F. Effects of fatigue on the electromechanical delay components in gastrocnemius medialis muscle. *Eur J Appl Physiol* 114: 639–651, 2014.
31. Rao R, Panghate A, Chandanwale A, Sardar I, Ghosh M, Roy M, Banerjee B, Goswami A, Kotwal PP. Clinical comparative study: efficacy and tolerability of tolperisone and thiocholchicoside in acute low back pain and spinal muscle spasticity. *Asian Spine J* 6: 115–122, 2012.
32. Rizzuto E, Musarò A, Catizone A, Del Prete Z. Measuring tendon properties in mdx mice: cell viability and viscoelastic characteristics. *J Biomech* 42: 2243–2248, 2009.
33. Sasaki K, Sasaki T, Ishii N. Acceleration and force reveal different mechanisms of electromechanical delay. *Med Sci Sports Exerc* 43: 1200–1206, 2011.
34. Tidball JG. Force transmission across muscle cell membranes. *J Biomech* 24, Suppl 1: 43–52, 1991.
35. Tidball JG, Law DJ. Dystrophin is required for normal thin filament-membrane associations at myotendinous junctions. *Am J Pathol* 138: 17–21, 1991.
36. Tidball JG, Salem G, Zernicke R. Site and mechanical conditions for failure of skeletal muscle in experimental strain injuries. *J Appl Physiol* 74: 1280–1286, 1993.
37. Wokke BH, van den Bergen JC, Versluis MJ, Niks EH, Milles J, Webb AG, van Zwet EW, Aartsma-Rus A, Verschuuren JJ, Kan HE. Quantitative MRI and strength measurements in the assessment of muscle quality in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 24: 409–416, 2014.
38. Woods CE, Novo D, DiFranco M, Capote J, Vergara JL. Propagation in the transverse tubular system and voltage dependence of calcium release in normal and mdx mouse muscle fibres. *J Physiol* 568: 867–880, 2005.

ÉTUDE #4

Évaluation non-invasive de la raideur musculaire
chez des patients atteints de la dystrophie
musculaire de Duchenne

Publication associée

Lacourpaille L., Hug F., Guével A., Péréon Y., Magot A.,
Hogrel JY., & Nordez A. (sous presse)

*NON-INVASIVE ASSESSMENT OF MUSCLE STIFFNESS IN PATIENTS WITH
DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY.*

Muscle & Nerve.

INTRODUCTION

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) induit une augmentation de la raideur musculo-tendineuse (Cornu et al., 1998, 2001) et musculo-articulaire (Cornu et al., 2001). Cette modification des propriétés mécaniques est significativement corrélée au stade de la pathologie (score au testing musculaire manuel) (Cornu et al., 1998, 2001) et contribue à la perte d'autonomie des patients (Hakim et al., 2011). Ainsi, l'évaluation de la raideur musculaire pourrait fournir des informations utiles pour le suivi des patients au cours de la maladie et quantifier les effets d'un essai clinique (Hakim et al., 2011).

Jusqu'à aujourd'hui, les propriétés mécaniques musculaires ont uniquement été évaluées *via* des méthodes globales telles que les perturbations sinusoïdales (Cornu et al., 2001) ou le *quick release* (Cornu et al., 1998, 2001). Ces méthodes présentent plusieurs limites. Premièrement, elles nécessitent l'utilisation d'un ergomètre spécifique à chaque articulation, rendant difficile l'évaluation de plusieurs groupes musculaires. Deuxièmement, elles rendent compte des propriétés globales de l'ensemble des muscles (i.e., agonistes et antagonistes) croisant l'articulation. Ceci est particulièrement problématique puisque les muscles croisant une même articulation peuvent être différemment touchés par la pathologie (Wokke et al., 2014 ; Marden et al., 2005). Enfin, ces techniques nécessitent l'exécution de contractions musculaires volontaires (parfois maximales), pouvant être douloureuses et difficiles à réaliser (Agre et Sliwa, 2000).

L'objectif de ce travail était donc d'évaluer la raideur (i.e., module d'élasticité) de différents muscles par élastographie (Supersonic Shear Imaging, SSI).

MATÉRIELS & MÉTHODE

Les expérimentations ont été réalisées sur la même population que l'étude #4. Le module d'élasticité a été mesuré sur 6 muscles au repos (*gastrocnemius medialis*, GM ; *tibialis anterior*, TA ; *vastus lateralis*, VL ; *biceps brachii*, BB ; *triceps brachii*, TB ; *abductor digiti minimi*, ADM) et dans deux positions différentes (raccourcie et étirée). Pour le GM le genou était fléchi à 90° (raccourcie) ou en extension complète (étirée), avec la cheville à 90° (i.e., pied perpendiculaire à la jambe). Pour le TA, le genou était en extension complète et la cheville à 90° (raccourcie), ou en flexion plantaire à 20° (étirée). Pour le VL, le genou était étendu (raccourcie) ou fléchi à 90° (étirée). Pour le BB, le coude était fléchi à 90° (raccourcie) ou tendu le long du corps (étirée), la main en position neutre. Pour le TB, le bras

était allongé le long du corps (raccourcie) ou le coude en abduction et fléchit à 90° (étirée). Enfin, pour l'ADM, la main était en pronation et l'opérateur maintenait manuellement le 5^{ème} doigt en abduction maximale (raccourcie) ou dans l'alignement du 5^{ème} *metacarpus* (étirée). Les patients atteints de DMD et les sujets contrôles avaient pour instructions de rester relâchés durant chaque mesure (i.e., enregistrement de 10 images/10 secondes).

RÉSULTATS

Il est important de noter que plusieurs mesures n'ont pas pu être effectuées chez les patients atteints de la DMD. Plus précisément, la raideur du VL en position raccourcie n'a pas été mesurée chez 1 patient et 4 patients en positions étirées. La raideur du BB n'a pas été mesurée chez 2 patients en position étirée. Enfin le TB n'a pas été mesuré pour deux patients dans chacune des positions. Ces données manquantes s'expliquent par l'impossibilité de placer le patient dans la position voulue (réduction de l'amplitude articulaire maximale) ou par des problèmes méthodologiques (i.e., incapacité de maintenir la sonde sur le VL ou d'obtenir une qualité de l'image suffisante pour localiser précisément le muscle). Par conséquent, nous avons réalisé une ANOVA séparée pour chaque muscle évalué [populations (contrôles et DMD) × position (étirée et raccourcie)]. Ces expérimentations mettent en évidence l'augmentation de raideur induite par la DMD, pour 5 des 6 muscles évalués (jusqu'à + 136 % pour le VL en position raccourcie) (tableau 4). Toutefois, malgré un petit effet taille ($d = 0,33$), la raideur de l'ADM des patients atteints de la DMD n'est pas significativement différente de celle des sujets contrôles ($P=0,394$). Nos résultats montrent également que l'augmentation de la raideur est similaire entre les deux positions (i.e., raccourcie vs. étirée) pour le GM, VL et TB. Ce résultat est particulièrement intéressant pour l'évaluation des patients présentant d'importantes rétractions tendineuses (50 % des patients âgés de 9 ans ; McDonald et al., 1995), dans l'incapacité d'atteindre les positions étirées. Enfin, l'étroite corrélation entre la raideur du GM ($r=0,74$ et $r=0,55$, pour la position étirée et raccourcie, respectivement) et l'âge chronologique, observée chez les patients atteints de DMD souligne l'atteinte progressive de ce muscle

Tableau 4. Module d'élasticité des 6 muscles mesurés chez les sujets contrôles (contrôles) et patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD).

		TA		GM		VL		BB		TB		ADM	
		Racc	Étirée	Racc	Étirée	Racc	Étirée	Racc	Étirée	Racc	Étirée	Racc	Étirée
Contrôles	Moy (kPa)	7,0	12,5	4,9	14,5	5,4	9,6	3,9	18,9	5,0	7,3	7,5	11,9
	ET (kPa)	1,9	3,1	0,9	3,5	1,7	2,2	0,4	6,4	0,9	1,4	2,2	5,0
	n	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
DMD	Moy (kPa)	7,9	23,1	8,2	21,9	12,9	21,5	5,8	34,9	6,2	8,7	8,7	14,1
	ET (kPa)	1,8	14,7	5,1	12,7	11,3	18,8	4,2	23,3	1,7	2,1	4,6	7,8
	n	13	13	13	13	12	9	13	11	12	12	13	13
Statistiques	Population	0,014		0,026		0,004		0,033		0,019		0,394	
	Position	0,000		0,000		0,001		0,000		0,000		0,000	
	Interaction	0,026		0,201		0,069		0,048		0,681		0,446	
	Post-hoc	0,991	0,004	-	-	-	-	0,999	0,017	-	-	-	-
d de cohen	0,48	0,99	0,91	0,79	0,89	0,89	0,63	0,86	0,84	0,74	0,33	0,33	

Les données apparaissent pour les deux positions testées : raccourcie (Racc) et étirée (Étirée) (voir section « Matériel & Méthode » pour la description des positions). n = nombre de participants et de patients inclus dans l'analyse statistique ; ET : écart type ; GM : *gastrocnemius medialis*; TA : *tibialis anterior*; VL : *vastus lateralis*; BB : *biceps brachii*; TB : *triceps brachii*; ADM : *abductor digitimi mini*, ADM. « Statistiques » révèle les résultats issus des différentes ANOVAs (variable catégorielle : Population ; facteur intra-sujet : Longueur ; Interaction : Population × Longueur). Les « P values » significatives sont identifiées en gras.

CONCLUSION

La DMD induit une augmentation de la raideur musculaire. Les résultats de cette étude indiquent une atteinte musculaire « généralisée » (i.e., TA, GM, VL, BB, TB), à l'exception de l'ADM. Ce travail souligne également l'augmentation progressive de la raideur musculaire du GM avec l'âge des patients. Par conséquent, la technique d'élastographie SSI pourrait être particulièrement pertinente pour suivre l'avancée de la maladie puisque la raideur contribue (avec la chute de force) à l'immobilisation des articulations (Hakim et al., 2011 ; Smith et Barton, sous presse) et inéluctablement à la perte d'autonomie. Une étude longitudinale est toutefois nécessaire pour déterminer la sensibilité de cette méthode à l'évolution de la maladie.

**Non-invasive assessment of muscle stiffness in patients with Duchenne
Muscular Dystrophy**

Lilian LACOURPAILLE (MSc)¹, François HUG (PhD)^{1,2}, Arnaud GUÉVEL (PhD)¹, Yann
PÉREON (MD, PhD)^{3,4}, Armelle MAGOT (MD)^{3,4}, Jean-Yves HOGREL (PhD)⁵, Antoine
NORDEZ (PhD)¹

¹ Laboratory « Motricité, Interactions, Performance » (EA 4334), University of Nantes, UFR STAPS, Nantes, France

² NHMRC Centre of Clinical Research Excellence in Spinal Pain, Injury and Health, The University of Queensland, School of Health and Rehabilitation Sciences, Brisbane, Australia

³ Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Nantes-Angers, University of Nantes, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France

⁴ Atlantic Gene Therapies, Nantes, France

⁵ Institut of Myology, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

***Correspondence and reprints:**

François HUG, PhD
University of Nantes
Laboratory « Motricité, Interactions, Performance » (EA 4334)
25 bis boulevard Guy Mollet
BP 72206
44322 Nantes cedex 3
France
E-mail: francois.hug@univ-nantes.fr

Word count : 1157

Running Title: Stiffness in DMD patients

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as an 'Accepted Article', doi: 10.1002/mus.24445

Abstract

Introduction: Assessment of muscle mechanical properties may provide clinically valuable information for follow-up of patients with Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) through the course of their disease. This study aimed to assess the effect of DMD on stiffness of relaxed muscles using elastography (Supersonic Shear Imaging). **Methods:** Fourteen DMD patients and 13 control subjects were studied. Six muscles were measured at 2 muscle lengths (shortened and stretched): gastrocnemius medialis (GM), tibialis anterior (TA), vastus lateralis (VL), biceps brachii (BB), triceps brachii (TB), and abductor digiti minimi (ADM). **Results:** Stiffness was significantly higher in DMD patients compared to controls for all the muscles (main effect population; all P values <0.033), except for ADM. The effect size was small ($d=0.33$ for ADM at both muscle lengths) to large ($d=0.86$ for BB/stretched). **Discussion:** Supersonic shear imaging is a sensitive non-invasive technique to assess the increase in muscle stiffness associated with DMD.

Keywords: Elastography, Shear elastic modulus, Myopathy, Evaluation, Supersonic Shear Imaging.

Introduction

DMD is associated with alteration of muscle mechanical properties [1, 2, 3, 4]. Increased stiffness is correlated with the stage of disease [4] and contributes to the progressive loss of autonomy [2, 5]. Consequently, assessment of muscle mechanical properties may provide clinically important information for follow-up of patients through the course of their disease and for assessment of the efficacy of potential therapies [2].

Muscle mechanical properties have been assessed to date using sinusoidal perturbations or quick release techniques [3, 4], which have several limitations. First, they require specific dynamometers designed for a given articulation, which makes it difficult to assess mechanical properties of different joints. Second, they cannot isolate the behavior of an individual muscle, but rather they represent the global behavior of several muscles acting around a given joint. This is particularly problematic, as muscles can be affected differently, even within the same limb [6, 7, 8]. Finally, these techniques require patients to perform voluntary muscle contractions, which can be painful, difficult to perform, and deleterious [9].

This study aimed to assess the effect of DMD on stiffness of relaxed muscles using elastography (Supersonic Shear Imaging, SSI).

Materials and methods

Participants

Fourteen DMD patients [13.3 ± 5.9 years (range: 5-22 years)] and 13 age-matched healthy controls [12.8 ± 5.5 years (range: 6-24 years)] volunteered to participate. The local ethics committee approved the study, and all procedures conformed to the Declaration of Helsinki. Data from the biceps brachii have been published in a separate communication [10].

Shear Elastic Modulus

An Aixplorer ultrasound scanner (Aixplorer, Supersonic Imagine, France) coupled with a linear transducer array (4–15 MHz) was used in shear wave elastography mode. This technique quantifies the shear elastic modulus (stiffness) of a localized area of tissue and generates 2-D maps of elasticity in real-time (1 sample/s; for further information, see [11, 12]). Good reliability of this SSI technique has been demonstrated previously [12]. For each muscle and each position, 10 shear elastic measurements were averaged to obtain a representative value [12].

Protocol

The shear elastic modulus was measured at 2 muscle lengths (shortened and stretched) from 6 muscles (right side): gastrocnemius medialis (GM), tibialis anterior (TA), vastus lateralis (VL), biceps brachii (BB), triceps brachii (TB), and abductor digiti minimi (ADM). Briefly, for GM the knee was flexed at 90° (shortened) or fully extended (stretched) with the ankle in neutral position. For TA, the knee was extended fully with the ankle angle in neutral position (shortened) or plantarflexed at 20° (stretched). For VL, the knee was extended fully (shortened) or flexed at 90° (stretched). For BB, the elbow was flexed at 90° (shortened) or over-extended along the body (stretched), with the hand in neutral position. For TB, the arm was extended along the body (shortened) or abducted and flexed at 90° (stretched). For ADM, the hand was placed in pronation, and the examiner manually maintained the fifth finger in maximal abduction (shortened) or in alignment with the fifth metacarpal (stretched). Participants were lying on a plinth and were asked to relax during each recording that lasted approximately 10s for each muscle.

Statistics

Measurements were not performed in 1 DMD patient who was unable to remain relaxed. Data are thus reported for 13 patients. VL was not measured in 1 DMD patient in shortened position, and in 4 patients in stretched position. BB was not measured in 2 DMD

patients in stretched position. TB was not measured in 2 DMD patients in both positions. These missing data are explained by the inability to reach the desired position due to contractures in 1 patient or by experimental constraints (i.e., inability to properly maintain the US probe over the VL belly in patients in wheelchairs and the quality of the B-mode image in 1 patient that made it impossible to localize the muscle). Given the exploratory nature of this study, and because of missing data, an ANOVA was performed separately for each muscle (within-subject factor: muscle length, between-subject factor: population). *Post-hoc* analyses were performed using the Tukey method. Cohen *d* values are reported as measures of effect size, with 0.2, 0.5, and 0.8 as small, moderate, and large effects, respectively [13]. A separate correlation analysis was performed for each population and each muscle to determine whether the shear elastic modulus correlated with the age of participants/patients. Significance was set at $P < 0.05$.

Results

A significant main effect of population was found on the shear elastic modulus for TA ($P=0.014$), GM ($P=0.026$), VL ($P=0.004$), BB ($P=0.033$), TB ($P=0.019$), but not for ADM ($P=0.394$) (Table 1). A significant population \times muscle length interaction was found for TA ($p=0.026$) and BB ($p=0.048$). At long muscle length, the TA shear elastic modulus ($p=0.005$) and BB ($p=0.017$) were significantly higher in DMD than in healthy participants, but no difference between the populations was found at the short length ($p=0.991$ and 0.999 for TA and BB, respectively). The effect size (Cohen *d*) was moderate to large for all the muscles except ADM (small effect at both muscle lengths; Table).

Only the shear elastic modulus of GM at both muscle lengths correlated with age in the DMD patients ($r=0.74$, $P=0.005$; $r=0.55$, $P=0.050$, for long and short muscle length, respectively). No significant correlation was found for healthy participants (r -values < 0.43).

Discussion

Taking advantage of a non-invasive technique, we showed that muscle stiffness is increased significantly in patients with DMD (up to +136% for VL/shortened). Although a small effect size was reported ($d=0.33$), no significant difference was found for ADM. This is in line with previous studies which showed that disease severity evolves mainly in a proximal-distal manner [14, 15]. The increase in stiffness was similar between the shortened and stretched position for 3/6 muscles (GM, VL, and TB). This is particularly relevant for patients with a high degree of joint contractures (50% of the DMD patients over age 9 years; [16]) who may be unable to reach the stretched positions. Finally, the large correlation between GM stiffness and age of the DMD patients suggests that the increase in muscle stiffness is possibly related to the stage of the disease.

Overall, the results show that SSI is a sensitive non-invasive technique to quantify the increase in muscle stiffness in DMD patients. Quantification of muscle stiffness is particularly relevant in clinical settings, as increased stiffness contributes to progressive loss of autonomy [2, 5]. Longitudinal studies are now necessary to determine the sensitivity of the SSI technique to detect changes in muscle stiffness throughout the course of the disease. Ultimately, this direct assessment might help clinicians to detect change in stiffness of targeted muscles early in order to adapt physiotherapy treatments and thus to prevent joint deformities and prolong autonomy. Finally, the first step of clinical trials classically consists of intramuscular injection into a specific muscle [17, 18, 19], making it necessary to target the evaluation to this muscle. Therefore, the ability of SSI to quantify stiffness of a localized area of muscle tissue makes it a potentially interesting tool to monitor clinical trials. Further investigations are necessary to test these assumptions.

Acknowledgements

The authors thank Michael Bergin (The University of Queensland, Australia) for editing the manuscript. The present study was sponsored by grants from the European Regional Development Fund (ERDF, n°37400), the French Muscular Dystrophy association (AFM, contract no. 14084) and the Region des Pays de la Loire.

Accepted Article

Abbreviations

ADM, Abductor Digiti Minimi

BB, Biceps Brachii

DMD, Duchenne Muscular Dystrophy

GM, Gastrocnemius Medialis

TA, Tibialis Anterior

TB, Triceps Brachii

SSI, Supersonic Shear Imaging

US, Ultrasound

VL, Vastus Lateralis

Accepted Article

References

1. Berquin A, Schmit P, Moens P, Lebacqz J. Compliance of normal, dystrophic and transplanted mouse muscles. *J Biomech* 1994;27:1331-1337.
2. Hakim CH, Grange RW, Duan D. The passive mechanical properties of the extensor digitorum longus muscle are compromised in 2- to 20-mo-old mdx mice. *J Appl Phys* 2011;110:1656-1663.
3. Cornu C, Goubel F, Fardeau M. Stiffness of knee extensors in duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 1998;21:1772-1774.
4. Cornu C, Goubel F, Fardeau M. Muscle and joint elastic properties during elbow flexion in Duchenne muscular dystrophy. *J Physiol* 2001;533:605-616.
5. Smith LR, Barton ER. Collagen content does not alter the passive mechanical properties of fibrotic skeletal muscle in mdx mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014;15:C889-898.
6. Wokke BH, van den Bergen JC, Versluis MJ, Niks EH, Milles J, Webb AG, et al. Quantitative MRI and strength measurements in the assessment of muscle quality in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. Article online posting date: February 8, 2014. DOI: 10.1016/j.nmd.2014.01.015.
7. Hollingsworth KG, Garrod P, Eagle M, Bushby K, Straub V. Magnetic resonance imaging in Duchenne muscular dystrophy: longitudinal assessment of natural history over 18 months. *Muscle Nerve* 2013;48(4):586-588.
8. Marden FA, Connolly AM, Siegel MJ, Rubin DA. Compositional analysis of muscle in boys with Duchenne muscular dystrophy using MR imaging. *Skeletal Radiol* 2005;34:140-148.
9. Agre JC, Sliwa JA. Neuromuscular rehabilitation and electrodiagnosis: 4. Specialized neuropathy. *Arch Phys Med Rehabil* 2000;81:27-31.
10. Lacourpaille L, Hug F, Guével A, Péréon Y, Magot A, Hogrel JY, et al. New insights on contraction efficiency in patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Appl Phys*. Article online posting date: August 7, 2014. DOI: 10.1152/jappphysiol.00544.2014.
11. Bercoff J, Tanter M, Fink M. Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 2004;51:396-409.
12. Lacourpaille L, Hug F, Bouillard K, Hogrel J-Y, Nordez A. Supersonic shear imaging provides a reliable measurement of resting muscle shear elastic modulus. *Phys Meas* 2012;33:N19-28.
13. Cohen JH. *Statistical Power for the Behavioral Sciences*. 1988.
14. Emery AEH. The muscular dystrophies. *Lancet* 2002;359(9307):687-695.
15. Pane M, Mazzone ES, Fanelli L, De Sanctis R, Bianco F, Sivo S, et al. Reliability of the Performance of Upper Limb assessment in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2014;24:201-206.
16. McDonald CM, Abresch RT, Carter GT, Fowler WM, Jr, Johnson ER, Kilmer DD, et al. Profiles of neuromuscular diseases. Duchenne muscular dystrophy. *Am J Phys Med Rehabil* 1995;74:S70-92.
17. Pinheiro DF, da Silva RF, Carvalho LP, Paiva-Oliveira EL, Pereira RS, Leite PE, et al. Persistent activation of omentum influences the pattern of muscular lesion in the mdx diaphragm. *Cell Tissue Res* 2012;350:77-88.
18. Lessa TB, Carvalho RC, Francioli AL, de Oliveira LJ, Barreto RS, Feder D, et al. Muscle reorganisation through local injection of stem cells in the diaphragm of mdx mice. *Acta Vet Scand*. Article online posting date: December 12, 2012. DOI: 10.1186/1751-0147-54-73.

19. Bonuccelli G SF, Capozza F, Gazzero E, Minetti C, Lisanti MP. Localized treatment with a novel FDA-approved proteasome inhibitor blocks the degradation of dystrophin and dystrophin-associated proteins in mdx mice. *Cell Cycle* 2007;6:1242-1248.

Accepted Article

Table

Shear elastic modulus of the 6 muscles measured in control subjects (Controls) and patients with Duchenne Muscular Dystrophy (DMD).

		TA		GM		VL		BB		TB		ADM	
		Short	Long	Short	Long	Short	Long	Short	Long	Short	Long	Short	Long
Controls	Mean (kPa)	7.0	12.5	4.9	14.5	5.4	9.6	3.9	18.9	5.0	7.3	7.5	11.9
	SD (kPa)	1.9	3.1	0.9	3.5	1.7	2.2	0.4	6.4	0.9	1.4	2.2	5.0
	<i>n</i>	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
DMD	Mean (kPa)	7.9	23.1	8.2	21.9	12.9	21.5	5.8	34.9	6.2	8.7	8.7	14.1
	SD (kPa)	1.8	14.7	5.1	12.7	11.3	18.8	4.2	23.3	1.7	2.1	4.6	7.8
	<i>n</i>	13	13	13	13	12	9	13	11	12	12	13	13
Statistics	Population	0.014		0.026		0.004		0.033		0.019		0.394	
	Length	0.000		0.000		0.001		0.000		0.000		0.000	
	Interaction	0.026		0.201		0.069		0.048		0.681		0.446	
	<i>Post-hoc</i>	0.991	0.004	-		-		0.999	0.017		-		-
	Cohen <i>d</i>	0.48	0.99	0.91	0.79	0.89	0.89	0.63	0.86	0.84	0.74	0.33	0.33

Data are depicted for both muscle lengths (short and long – see methods for descriptions of the tested positions). *n* = number of participants and patients included in the data analysis; SD: standard deviation; TA: tibialis anterior; GM: gastrocnemius medialis; VL: vastus lateralis; BB: biceps brachii; TB: triceps brachii; ADM: abductor digiti minimi. Statistics: the results from the ANOVAs (between-subject factor: Population; within-subject factor: Length, and Population × Length interaction). Significant *P* values are shown in bold.

CHAPITRE IV

DISCUSSION GÉNÉRALE

Le premier volet de ces travaux de thèse visait à développer la technique d'évaluation du DEM par échographie ultrarapide chez des sujets sains. Pour ce faire, nous avons tout d'abord caractérisé l'influence de la longueur musculaire sur le DEM et ses composantes électrochimiques et mécaniques (étude #1). Ce travail indique qu'aux longueurs musculaires inférieures à la *slack length* (i.e., absence de tension passive), le délai séparant le début de mouvement des fascicules musculaires et le début de production de force est dépendant de la longueur du muscle, i.e., du temps pour mettre en tension la composante élastique série. Ensuite, nous avons mesuré l'influence de l'intensité de la stimulation électrique sur le DEM (étude #2). Au-delà de 70 % de l'intensité maximale de stimulation (I_{max}), les différents délais (DEM, D_m et D_t) n'évoluent plus. En revanche, à 30 et 50 % de I_{max} les délais sont significativement allongés par rapport aux intensités supérieures. Ce résultat démontre la nécessité de standardiser l'intensité de stimulation lors d'études longitudinales et/ou pour effectuer des comparaisons interindividuelles.

Le deuxième volet s'est attaché à quantifier l'effet de la DMD sur les propriétés contractiles et élastiques du muscle. Nous avons dans un premier temps montré que le DEM du *biceps brachii* est significativement plus long chez les patients atteints de la DMD que chez les sujets contrôles. Cette augmentation s'explique principalement par un allongement du délai séparant le début de mouvement des fascicules musculaires du début de production de force (étude #3). Dans une seconde partie, nous avons mis en évidence une augmentation de la raideur de 5 muscles, étudiées au repos en position étirée (*gastrocnemius medialis*, *tibialis anterior*, *vastus lateralis*, *biceps brachii*, et *triceps brachii*), chez des patients atteints de la DMD. En accord avec des études antérieures rapportant une épargne relative des muscles distaux des membres supérieurs, nous n'avons observé aucune modification de raideur pour l'*abductor digiti minimi*. Des études longitudinales sont nécessaires pour évaluer la sensibilité de ces mesures avec l'évolution de la maladie, et ainsi déterminer si elles peuvent être utilisées pour améliorer le suivi des patients au cours de la maladie, ou pour quantifier les potentiels effets d'un essai clinique.

Dans cette partie, nous nous intéresserons à l'apport de ces deux méthodes pour l'étude des propriétés musculaires contractiles et élastiques. En particulier, nous discuterons de l'intérêt de ces méthodes pour décrire le comportement des structures musculo-tendineuses chez les sujets sains. Ensuite, nous détaillerons les mécanismes méthodologiques et physiologiques permettant d'expliquer les résultats obtenus chez les patients atteints de la DMD. Enfin, nous présenterons les contributions et les perspectives issues de ce travail.

4.1 Évaluation des propriétés contractiles et élastiques chez les sujets sains

4.1.1 Délai électromécanique par échographie ultrarapide

Préalablement à l'utilisation d'une méthode d'évaluation, il convient de quantifier sa fidélité. Cette information est primordiale pour pouvoir attribuer des variations de mesure à des facteurs physiologiques ou expérimentaux. Nous avons donc quantifié dans l'étude #2 la reproductibilité « *inter-day* » de chaque délai (DEM, Dm et Dt). Les résultats obtenus sont proches de ceux rapportés par Nordez et al. (2009) en condition de répétabilité ou « *intra-day* » (CV entre 8,2 et 12,4 % et ESM entre 0,34 et 0,75 ms). Il est important de noter que ces résultats sont très satisfaisants puisque la résolution temporelle de la mesure est de 0,2 et 0,25 ms pour les mesures de force et de déplacements, respectivement.

À notre connaissance, l'étude #2 est le premier travail expérimental à mettre en évidence l'influence de l'intensité de la stimulation électrique musculaire sur le DEM et ses composantes électrochimiques et de transmission de force. En effet, une seule étude a caractérisé l'influence de l'intensité du courant sur le DEM (Zhou et al., 1995). Ces auteurs rapportent des résultats relativement similaires à nos observations puisqu'ils montrent une diminution du DEM avec l'augmentation de l'intensité du courant (i.e., 22, 18, 17,2 ms pour 90, 120, 150 V, respectivement). Toutefois, ces auteurs ne fournissent ni les intensités relatives de stimulation utilisées (en % de I_{max}), ni l'évolution des mécanismes impliqués dans le DEM (i.e., Dm et Dt). Par ailleurs, aucune discussion n'est faite à propos de ce résultat (Zhou et al., 1995). En ce qui nous concerne, les résultats de l'étude #2 invalident l'hypothèse préalablement émise, considérant que les délais ne sont pas affectés par l'intensité de stimulation. En effet, les travaux récents développés en électromyostimulation s'accordent à dire que ce mode de stimulation sollicite les terminaisons nerveuses et donc participe à un recrutement aléatoire du type (rapides vs. lentes) et de la localisation (i.e., superficielles vs. profondes) des fibres musculaires (Jubeau et al., 2007 ; Maffiuletti, 2010b ; Adams et al., 1993). L'allongement du DEM, Dm et Dt aux intensités faibles (i.e., 30 % et 50 %) observé dans cette étude serait donc principalement attribuable à des facteurs méthodologiques. Il est probable que le phénomène de relâchement musculaire préliminaire à la contraction, connu sous le nom de « *latency relaxation* », puisse être uniquement observé lors des stimulations de

fortes intensités (i.e., inférieures à 70 % du I_{max}) (Rauh, 1922 ; Hill, 1949). La détection du mouvement du tissu se faisant dans toutes les directions, le début de mouvement du muscle et du tendon (i.e., D_m et D_t) pourrait alors être mesuré précocement. De même, l'incrémentaire de la stimulation électrique va progressivement augmenter le nombre d'unités motrices recrutées (Adams et al., 1993). L'amélioration subséquente du rapport signal sur bruit pourrait potentiellement influencer la détection du début de production de force. Ces résultats soulignent donc l'intérêt de standardiser l'intensité de stimulation afin de pouvoir réaliser des comparaisons intra- (e.g., étude longitudinale) et interindividuelles.

Par l'intermédiaire de l'étude #1 nous avons confirmé les résultats de Hug et al. (2011b) et montré que le délai séparant le début de mouvement des fascicules musculaires et le début de mouvement de la jonction myotendineuse du *biceps brachii* est indépendant de l'angle articulaire. Ce résultat invalide la première hypothèse faite par Hug et al. (2011b) pour expliquer les différentes « modalités » de transmission de la force observée entre le *gastrocnemius medialis* (Nordez et al., 2009) et le *biceps brachii* (Hug et al., 2011b). Par conséquent, nos résultats sont en faveur de l'hypothèse alternative qui suggère que la transmission de force musculo-tendineuse est déterminée par l'architecture musculaire (Hug et al., 2011b).

4.1.2 Raideur musculaire par élastographie

Préalablement aux mesures sur les patients atteints de la DMD nous avons souhaité évaluer si la méthode d'élastographie SSI permettait d'estimer la tension passive au sein du *biceps brachii* au cours d'un étirement (étude #1). Ce travail a notamment permis de confirmer la capacité de cette technique à déterminer la *slack length* d'un muscle cible (Koo et al., 2013 ; Maïsetti et al., 2012). Ces observations représentent une avancée considérable dans le domaine de la modélisation biomécanique car ce paramètre fonctionnel est à ce jour particulièrement difficile à estimer *in vivo* (Garner et Pandy, 2003), et est considéré comme crucial au sein de ces modèles (Ackland et al., 2012). De manière générale, l'utilisation de cette technique permettra de mettre à l'épreuve des hypothèses biomécaniques qui ne pouvaient jusqu'alors être testées *in vivo* (e.g., transmission de force inter-muscles, Bojsen-Møller et al., 2010).

4.2 Effets de la dystrophie musculaire de Duchenne sur les propriétés musculaires contractiles et élastiques

4.2.1 Force maximale électriquement évoquée

Nous avons vu dans la section 1.1.3.1 que la capacité de production de force des patients atteints de la DMD était considérablement réduite. La plupart des études qui rapportent ce résultat se base sur des mesures de force maximale volontaire (McDonald et al., 1995 ; Cornu et al., 2001 ; Hogrel et al., 2006). Toutefois, pour s'affranchir de la motivation des patients atteints de la DMD (McNair et al., 1996) et de leur capacité à atteindre un niveau d'activation maximal (Piotrkiewicz et al., 1993), nous avons évalué la force maximale évoquée par stimulation électrique musculaire. Il est important de noter que cette technique peut être considérée comme inconfortable (Delitto et al., 1992) et que le recrutement spatial des fibres musculaires est largement incomplet (pour revue, Maffiuletti, 2010b). Toutefois, le placement systématique des électrodes de stimulation sur la partie distale du muscle et le principal point moteur déterminé nous permet de comparer les deux populations évaluées.

Nos résultats indiquent que le couple de force du *biceps brachii* des patients atteints de la DMD représente 10,4 % du couple de force des sujets sains. Cette réduction des capacités de production de force involontaire est largement supérieure à celle rapportée par McComas et al. (1971) sur l'*extensor hallucis brevis* (≈ 50 % de la force des sujets contrôles) et Scott et al. (1986) sur le *tibialis anterior* (≈ 26 % de la force des sujets contrôles). Ces résultats semblent corroborer la faiblesse musculaire proximo-distale déjà largement rapportée dans la littérature (pour revue, Emery, 2002). Par ailleurs, nous constatons que la force électro-induite est plus réduite que la force maximale volontaire isométrique (≈ 21 % de la force des sujets contrôles ; cf. tableau 1). L'utilisation de cette technique d'investigation de la force musculaire pourrait donc être particulièrement pertinente afin d'évaluer l'efficacité de traitements administrés par voie intramusculaire (Pinheiro et al., 2012 ; Lessa et al., 2012 ; Bonuccelli et al., 2007). L'évaluation conjointe des processus électrochimiques et mécaniques impliqués dans la production de force de ce muscle permettrait une meilleure description de la maladie et pourrait, à plus long terme, identifier les mécanismes d'actions d'un traitement.

4.2.2 Processus électrochimiques du DEM

À partir de l'échographie ultrarapide, nous avons montré que la part relative à la

composante électrochimique du DEM n'est pas modifiée chez les patients atteints de la DMD (étude #3). Toutefois, rappelons que cette approche temporelle de la contraction ne permet pas d'identifier le temps nécessaire à chaque mécanisme impliqué dans ce délai. Or, Dm est dépendant, entre autres, du temps nécessaire à la transmission synaptique, à la libération du calcium par le réticulum sarcoplasmique, et à la formation des ponts actine-myosine (Cavanagh et Komi, 1979). L'absence de différence entre les valeurs de Dm des patients atteints de la DMD et des sujets contrôles pourrait donc s'expliquer par des compensations entre plusieurs mécanismes impliqués dans ce délai. Woods et al. (2005) ont d'ailleurs révélé par modélisation que le temps nécessaire pour saturer la troponine-C en calcium était largement augmenté chez les souris *mdx* (≈ 4 ms et ≈ 9 ms, pour les souris contrôles et *mdx*, respectivement). D'autre part, plusieurs équipes de recherche rapportent la présence de fibres musculaires « hypercontractées » chez les patients atteints de la DMD (Cullen et Fulthorpe, 1975 ; Cozzi et al., 2001 ; Claflin et Brooks, 2008), traduisant l'interaction « résiduelle » entre l'actine et la myosine. Par conséquent, nous pouvons supposer qu'au cours du couplage excitation-contraction le temps nécessaire à saturer la troponine-C en calcium soit augmenté tandis que l'interaction entre l'actine et la myosine soit presque immédiate. De fait, la compensation entre ces deux mécanismes conduirait à un Dm inchangé chez les patients atteints de la DMD. Toutefois, il n'existe actuellement aucune méthode permettant d'investiguer ces processus *in vivo*.

4.2.3 Processus mécaniques du DEM

Dans l'étude #3 nous avons mis en évidence que la part associée aux processus de transmission de la force le long du muscle et du tendon (Tm) était significativement augmentée chez les patients atteints de la DMD (+ 75 %). En outre, une étroite corrélation a été obtenue entre Tm et l'âge des patients ($r=0,66$) (cf. figure 29), traduisant le caractère évolutif des mécanismes impliqués. Selon nous, trois mécanismes peuvent expliquer ce résultat.

Comme mentionné section 1.1.3.3, la force créée dans chacun des sarcomères est transmise longitudinalement jusqu'à la jonction myotendineuse *via* les ponts actine-myosine et la titine. Elle est également transmise latéralement à la matrice extracellulaire, au niveau du muscle et de la jonction myotendineuse *via* les costamères (contenant la dystrophine) (Patel et Lieber, 1997 ; Huijing, 1999 ; Monti et al., 1998). Lors d'une stimulation électrique musculaire, la transmission de la force au niveau des zones « non activées » (pour revue,

Maffiuletti, 2010b) est dépendante des propriétés de la titine et des costamères (Claflin et Brooks, 2008). Or, plusieurs études révèlent qu'en présence d'une forte concentration de calcium intracellulaire, les capacités fonctionnelles de la titine sont réduites (Gailly et al., 2007 ; Murphy et al., 2006 ; Verburg et al., 2005). D'autre part, l'absence de dystrophine conduit à la désorganisation des costamères (Porter et al., 1992 ; Straub et al., 1992) et à l'altération de leurs capacités fonctionnelles (Spencer et Mellgren, 2002). Nous pouvons donc faire l'hypothèse que l'allongement du T_m rapporté chez les patients atteints de la DMD est attribuable à une détérioration de la vitesse de transmission de la force au niveau des zones « non activées » ou « non fonctionnelles ». Cependant, cette hypothèse n'explique pas la corrélation observée entre T_m et l'âge des patients car la quantité de ces zones est relativement constante dans le temps (McComas et al., 1971, 1977 ; Bell et Conen, 1968 ; Desguerre et al., 2009).

Dans le muscle sain, le processus de régénération fibrillaire contribue à l'apparition de fibres musculaires « ramifiées » ou « *branched fibers* » (Carpenter et Karpati, 2001 ; Eriksson et al., 2006). La succession des processus de nécrose-régénération observée au sein des fibres DMD (Gorospe et al., 1997 ; Schmalbruch, 1984) participe à l'apparition progressive de fibres musculaires « divisées », « ramifiées », et détachées du tendon (Head et al., 1992, 2010 ; Chan et al., 2007). Ainsi, nous pouvons faire l'hypothèse que la transmission de la force le long de ces fibres n'est pas optimale et qu'elle est probablement « détournée » de la voie la plus « efficace ». Cette hypothèse est d'autant plus plausible que plusieurs études rapportent une augmentation presque exponentielle de la quantité d'anomalies myofibrillaires avec l'âge de la souris *mdx* (Isaac et al., 1973 ; Head et al., 1992 ; Blake et al., 2002 ; Chan et al., 2007). Par exemple, Head et al. (1992) ont démontré que l'augmentation de la proportion d'anomalies structurales myofibrillaires retrouvée au sein du muscle (fibres ramifiées, nécrosées, etc.) évoluait avec l'âge de la souris *mdx*. Plus précisément, si cette proportion chez la souris *mdx* est inférieure à 5 % entre 3 et 15 semaines, elle passe à ≈ 20 % (de 5 à 40 % selon les muscles) entre 15 et 16 semaines, pour atteindre ≈ 65 % entre 26 et 84 semaines (de 30 à 90 % selon les muscles). Ces observations peuvent d'ailleurs être indirectement mises en évidence par les modifications d'architecture musculaire apparaissant à l'échographie des muscles de patients atteints de la DMD (figure 30) (Pillen et al., 2003 ; Zaidman et al., 2010 ; Shklyar et al., 2014 ; Jansen et al., 2012 ; Harris-Love et al., 2014). En quantifiant l'intensité des signaux ultrasonores rétrodiffusés au niveau de la zone d'intérêt (i.e., niveaux de gris), plusieurs équipes de recherche ont documenté une étroite relation entre

l'échogénéicité de l'image échographique et les capacités fonctionnelles des patients (Zaidman et al., 2010 ; Jansen et al., 2012). Ce résultat est imputable à l'hyperéchogénéicité du tissu non-contractile et à l'augmentation progressive de sa quantité avec l'âge des patients (Harris-Love et al., 2014). Au-delà de l'échogénéicité, la DMD semble induire une modification de l'organisation des fascicules musculaires (e.g., continuité des fibres, orientation) (figure 30). Il pourrait être intéressant de quantifier l'évolution de ce paramètre avec le stade de la pathologie, et d'évaluer sa relation avec la transmission de la force musculaire. Toutefois, une première interprétation qualitative des images échographiques provenant de la figure 30 laisse penser que cette évaluation peut être limitée par un « effet plafond ».

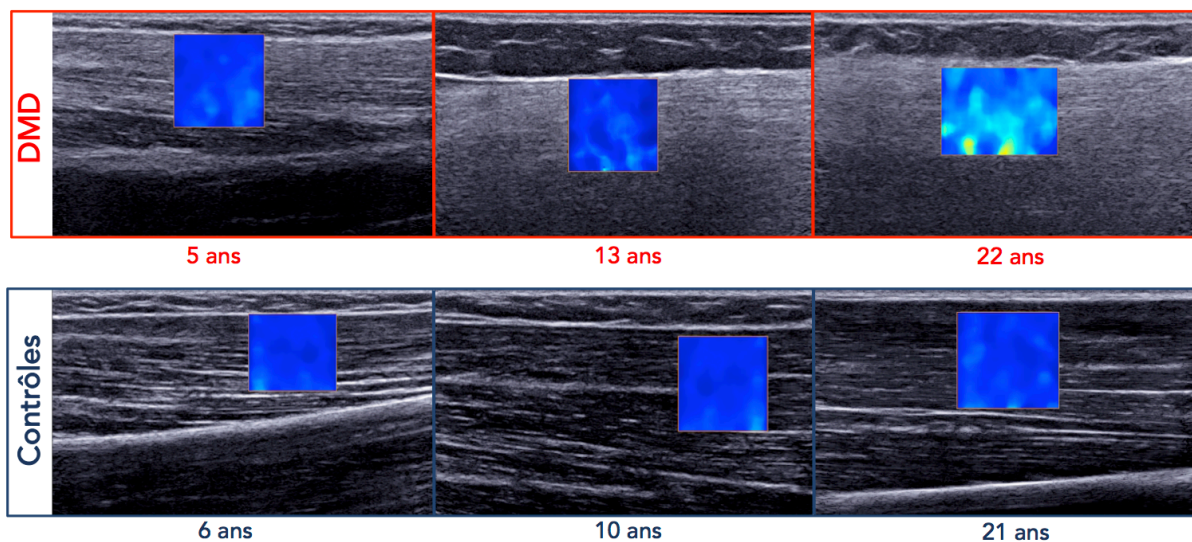


Figure 30: Effet de la DMD sur l'échogénéicité et l'organisation des fascicules musculaires à l'image échographique. Images échographiques du *biceps brachii* de patients atteints de la DMD âgés de 5, 13 et 22 ans, et de sujets contrôles âgés de 6, 10 et 21 ans. Étude #4.

De nombreuses études considèrent que l'augmentation de raideur d'un muscle améliore la transmission de la force (Jaskolski et al., 2007 ; Taylor et al., 1997 ; Zhang et Rymer, 2001 ; Rampichini et al., 2014). En effet, certains travaux rapportent une augmentation concomitante de la raideur musculo-tendineuse et de la performance motrice (Spurrs et al., 2003 ; Kubo et al., 2006 ; Burgess et al., 2007). Paradoxalement, la DMD induit à la fois une augmentation de la raideur musculaire (Berquin et al., 1994 ; Cornu et al., 1998, 2001 ; Hakim et al., 2011 ; étude #4) et une augmentation du temps nécessaire à la transmission de la force (étude #3).

Nous pouvons donc suggérer que malgré une éventuelle augmentation de la vitesse de propagation de la force de « proche en proche » (augmentation de la raideur), la désorganisation induite par les anomalies myofibrillaires participe à transmettre la force de manière « chaotique » et « inefficace ». Nous pouvons ici faire le parallèle avec les résultats obtenus dans l'étude #1, soulignant le rôle de l'architecture musculaire dans la transmission de la force du muscle au tendon. La mesure du délai entre le début de mouvement des fibres musculaires et le début de production de force au cours du DEM pourrait donc constituer un moyen indirect d'évaluer l'organisation du tissu musculaire.

4.2.4 Raideur musculaire par élastographie

Le module d'élasticité de cisaillement est calculé à partir de l'équation 4, comme le produit du carré de la vitesse de l'onde de cisaillement et de la densité du tissu dans lequel celle-ci se propage. Dans ce calcul, la densité du muscle est supposée constante, égale à 1000 kg.m^{-3} . Or, les études ayant utilisées la tomographie à rayons X, rapportent une augmentation précoce (à partir de 3 ans) et progressive des zones de faible densité au sein des muscles DMD (Arai et al., 1995 ; Shimizu et al., 1991 ; Stern et al., 1984 ; Nakayama et al., 2013). À l'instar des travaux réalisés par IRM, les auteurs rapportent une atteinte préférentielle des muscles *gluteus maximus* et *quadriceps femoris* (Shimizu et al., 1991), alors que les muscles *tibialis posterior* et *tibialis anterior* sont relativement préservés (Arai et al., 1995). Toutefois, ces études ne rapportent pas la densité exacte de chacun des muscles. Pourtant, selon la quantité d'infiltration graisseuse au sein du muscle, sa densité va varier entre 900 kg.m^{-3} (100 % de tissu adipeux) et 1060 kg.m^{-3} (100 % de muscle) (Mendez et Keys, 1960 ; Ross et al., 1991). En choisissant dans notre étude une densité moyenne de 1000 kg.m^{-3} , la surestimation maximale de raideur est donc de $\approx 10 \%$ pour un muscle composé à 100 % de tissu adipeux. En mettant en regard cette erreur maximale de mesure et la différence moyenne observée entre nos deux populations d'étude (+ 57,5 %), nous considérons que ce phénomène n'affecte pas nos interprétations.

L'étude #4 a mis en évidence une augmentation de raideur de l'ensemble des muscles évalué (*gastrocnemius medialis*, *tibialis anterior*, *vastus lateralis*, *biceps brachii*, et *triceps brachii*) chez les patients atteints de la DMD, à l'exception de *abductor digiti mini*. La « préservation » des propriétés mécaniques de ce dernier fait écho aux résultats d'études fonctionnelles ayant rapportées une atteinte « tardive » des muscles distaux des membres supérieurs (pour revue, Emery, 2002). L'hypothèse majoritairement avancée dans la

littérature est la moindre sollicitation de ces muscles selon un mode de contraction excentrique, ce qui réduit considérablement les lésions membranaires et perturbations structurales associées (Blaauw et al., 2010). En revanche, si nous prenons l'exemple du *biceps brachii*, nos résultats indiquent une augmentation moyenne de raideur de 84 % (position étirée) chez les patients atteints de la DMD. Cette augmentation de raideur est largement inférieure à celle rapportée par Cornu et al. (2001) (+ 5639 %) sur les fléchisseurs du coude. Par ailleurs, Cornu et al. (1998, 2001) avaient rapporté une étroite corrélation entre le stade de la maladie et la raideur musculaire des *quadriceps* et des fléchisseurs du coude, évaluée par « *quick release* ». Les résultats de l'étude #4 démontrent une étroite corrélation entre l'âge des patients et la raideur musculaire, uniquement pour le *gastrocnemius medialis* ($r=0,74$) (figure 31). En effet, aucune relation significative n'a été établie pour les autres muscles évalués (figure 31). Deux principales hypothèses peuvent être émises afin d'identifier l'origine des différences de résultats entre l'étude #4 et les travaux de Cornu et al. (1998, 2001). La première hypothèse est que la corrélation réalisée par Cornu et al. (1998) (i.e., âge des patients - score au testing musculaire) s'affranchit de la variabilité phénotypique observée dans la DMD (i.e., degré d'atteinte différent pour deux patients du même âge) (Desguerre et al., 2009). La seconde hypothèse est basée sur les caractéristiques des techniques utilisées pour mesurer la raideur. En effet, il est important de noter que ces deux méthodes (« *quick release* » et « *SSI* ») ne sont pas réalisées dans les mêmes conditions d'études (contractions vs. repos), et également, qu'elles ne sollicitent pas les mêmes structures (Σ des systèmes musculo-tendineux des agonistes vs. fascicules musculaires d'un muscle cible). Plus précisément, la méthode « *quick release* » permet d'évaluer la raideur de la composante élastique série active (ponts actine-myosine), et de la composante élastique série passive (aponévrose et tendon) de l'ensemble des muscles agonistes activés (Cornu et al., 1998, 2001). L'élastographie, réalisée sur un muscle au repos, caractérise quant à elle la raideur moyenne des fascicules musculaires contenus dans la cartographie. Cette valeur est donc la résultante de facteurs tels que la typologie musculaire, la quantité de ponts actine-myosine résiduels, la quantité de tissu collagénique, et la quantité de tissu graisseux. Pour comprendre les résultats obtenus dans l'étude #4, il convient de décrire l'effet de la DMD sur les mécanismes/structures considérés dans la mesure de raideur.

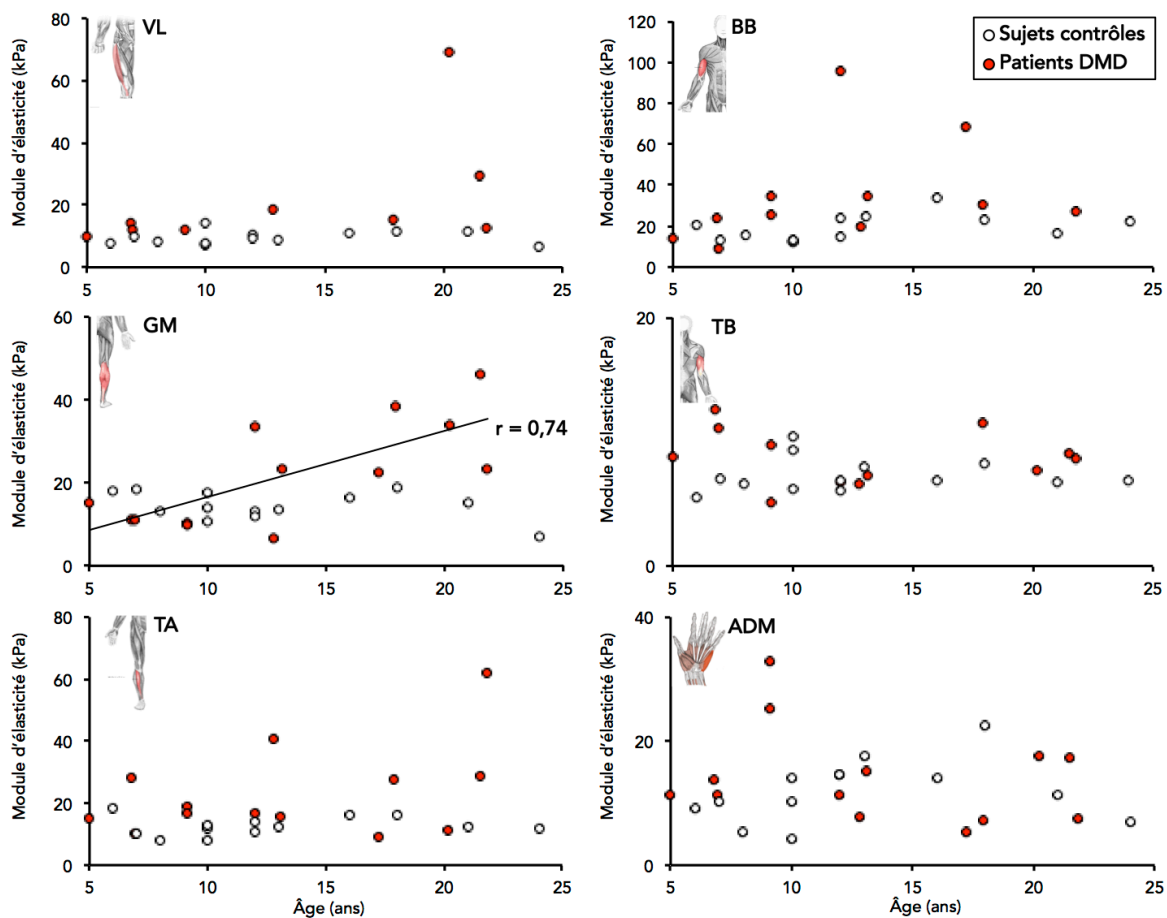


Figure 31: Module d'élasticité des 6 muscles étudiés (position étirée) en fonction de l'âge des participants (sujets contrôles et patients atteints de la DMD). GM : gastrocnemius medialis; TA : tibialis anterior; VL : vastus lateralis; BB : biceps brachii; TB : triceps brachii; ADM : abductor digiti mini. Les patients atteints de la DMD et les sujets contrôles sont spécifiés par des cercles rouges et blancs, respectivement.

La perturbation de l'homéostasie calcique chez les patients atteints de la DMD conduit à l'incapacité de certaines fibres musculaires à se relaxer suite à une contraction musculaire (Cros et al., 1989). En effet, si la concentration en calcium intracellulaire n'est pas suffisamment réduite, la tropomyosine ne peut pas venir bloquer le site actif de l'actine. Dans ces conditions, les ponts actine-myosine restent formés, participant à l'apparition de fibres « hypercontractées », caractéristiques du muscle DMD (Cros et al., 1989). Ces fibres musculaires restent donc sous tension malgré l'absence de stimulus électrique, contribuant probablement à l'augmentation de raideur au repos observée dans l'étude #4.

Comme mentionné section 1.1.2.5, une prédominance des fibres de type I est observée chez les patients atteints de la DMD (Dubowitz et Brooke, 1973). Cette modification typologique est très précoce puisque les fibres de type IIb disparaissent après l'âge de 5 ans (Nonaka et al., 1981 ; Webster et al., 1988). Or, les muscles majoritairement constitués de

fibres de type II ont une raideur musculo-tendineuse supérieure aux muscles contenant une forte proportion en fibres de type I (Goubel et Marini, 1987 ; Canon et Goubel, 1995 ; Kubo et al., 2000). Considérant ces informations, nous pensons que le changement typologique observé dans la DMD contribue, en partie, à l'augmentation de raideur observée dès le plus jeune âge (i.e., 5 ans) (Wang et al., 1999).

Un tissu fibreux riche en collagène de type I et III, apparaît précocement et progressivement au sein du muscle des patients atteints de la DMD (Ritz, 1985 ; Bell et Conen, 1968). Ces infiltrations collagéniques proliférant au niveau endomysial, puis pérимysial, ont des propriétés mécaniques totalement différentes du tissu musculaire environnant (Sarvazyan, 1995). Plus précisément, Sarvazyan (1995) rapporte un module d'élasticité de cisaillement moyen du collagène d'environ 500 kPa et de 10 kPa pour le muscle au repos. De fait, l'augmentation significative de la quantité de tissu fibreux au sein du muscle (e.g., + 25,7 % à l'étage endomysial chez des patients atteints de la DMD, Bell et Conen, 1968) contribue probablement à l'augmentation de la raideur musculaire de repos.

D'après Sarvazyan (1995), le module d'élasticité de cisaillement du tissu adipeux est proche mais inférieur à celui du muscle relâché (i.e., 10 kPa). Comme décrit section 1.1.2.4 l'augmentation de la masse adipeuse intramusculaire est un signe caractéristique de la DMD, affectant les muscles dans des proportions différentes (Bell et Conen, 1968 ; Cros et al., 1989 ; Liu et al., 1993 ; Marden et al., 2005 ; Wooke et al., 2014). Par exemple, la proportion en tissu adipeux peut atteindre 40 % du volume musculaire total du *vastus lateralis* alors que celle du *tibialis anterior* est d'environ 20 % (Wokke et al., 2014). De surcroît, l'âge de survenue de ces infiltrations intramusculaires est différente selon les muscles. Plus précisément, les muscles proximaux des membres inférieures (e.g., *gluteus*, *rectus femoris*, *vastus lateralis*) (Cros et al., 1989 ; Hollingworth et al., 2013 ; Wokke et al., 2014) et les fléchisseurs plantaires (Wokke et al., 2014) sont très rapidement affectés tandis que les muscles distaux sont atteints plus tardivement (Kinali et al., 2011). Cette augmentation de la proportion en tissu adipeux tend à « limiter » l'augmentation de raideur observée dans l'étude #4.

Ainsi, l'évaluation de la raideur musculaire au repos permet de s'affranchir du protocole fastidieux proposé par Cornu et al. (1998, 2001). Toutefois, la principale limite de la mesure par élastographie est qu'elle est également influencée par la quantité de tissu adipeux intramusculaire, structure qui tend à diminuer le module d'élasticité. Ainsi, nous pensons que l'âge de survenue et l'amplitude de cette proportion adipeuse intramusculaire

expliquent l'importante variabilité interindividuelle et inter-muscles observée dans l'étude #4. Une quantification conjointe de l'hétérogénéité de la raideur au sein de la carte ou de la quantité de tissu adipeux intramusculaire (e.g., *via* IRM) permettrait de vérifier cette hypothèse. Enfin, un suivi longitudinal de la raideur musculaire pourrait décrire les interactions entre ces différents processus en fonction des muscles et de l'âge des patients. En outre, la mesure de raideur du *gastrocnemius medialis* pourrait renseigner sur la « sensibilité » de cette méthode pour suivre l'évolution de la maladie.

4.3 Contributions et perspectives

4.3.1 Suivi longitudinal

Les études #3 et #4 ont mis en évidence une modification des propriétés musculaires contractiles et élastiques des patients atteints de la DMD. Toutefois, dans la perspective de documenter l'évolution de ces propriétés avec l'avancée de la maladie et d'estimer le potentiel de ces méthodes d'évaluation pour détecter des changements « fins », nous avons réalisé un suivi longitudinal à 1 an d'intervalle. Nous avons actuellement collecté l'intégralité des données, cependant, seul les données provenant de l'évaluation des propriétés contractiles ont été analysées (8 patients atteints de la DMD et 9 sujets contrôles).

La quantification de la force maximale évoquée du *biceps brachii* révèle une évolution opposée entre les deux populations d'étude. En effet, nous avons observé une diminution moyenne de 19,4 % ($d = 0,99$; large effet taille) du couple de force produit par les patients atteints de la DMD tandis que celui des sujets contrôles augmente de 14,8 % ($d = 0,24$; petit effet taille). Nous constatons également que la réduction des capacités de production de force semble être légèrement plus rapide chez les jeunes patients (-10,2 %/an; patients < 13 ans) par rapport aux patients plus âgés (-7,5 %/an; patients > 13 ans), corroborant les résultats de McDonald et al. (1995) (figure 32).

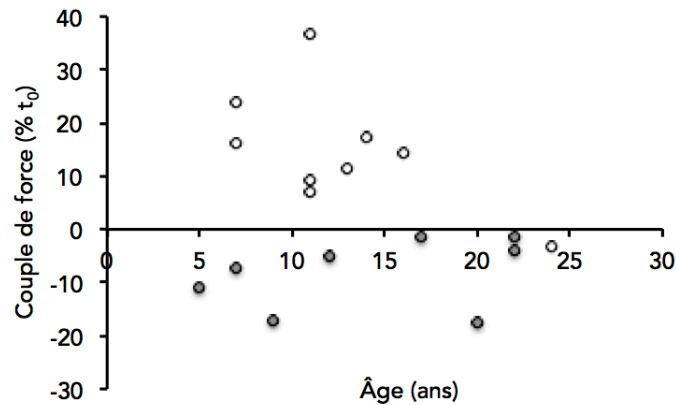


Figure 32: Évolution du couple de force à t_{+1an} en fonction de l'âge des participants. Les sujets contrôles et patients atteints de la DMD sont matérialisés par des cercles blancs et gris, respectivement. Le couple de force est exprimé en pourcentage du couple de force produit à t_0 .

L'évaluation du DEM par échographie ultrarapide à t_{+1an} confirme les résultats de l'étude #3. Par ailleurs, nous avons observé que le DEM moyen était allongé chez les patients atteints de la DMD ($18,6 \pm 5,1$ vs. $20,6 \pm 6,3$ ms à t_0 et t_{+1an} , respectivement) ($d = 0,36$; petit effet taille) par rapport aux sujets contrôles ($12,8 \pm 1,4$ vs. $12,8 \pm 1,7$ ms à t_0 et t_{+1an} , respectivement) ($d = 0$; effet taille négligeable). Ce résultat est attribuable à un allongement du délai entre le début de mouvement des fascicules et le début de production de force (T_m) chez les patients atteints de la DMD ($13,5 \pm 3,9$ vs. $14,6 \pm 5,8$ ms à t_0 et t_{+1an} , respectivement) ($d = 0,94$; large effet taille). Comme on peut le constater sur la figure 33, l'augmentation de T_m par rapport à t_0 n'est observée que chez les patients âgés de plus de 10 ans.

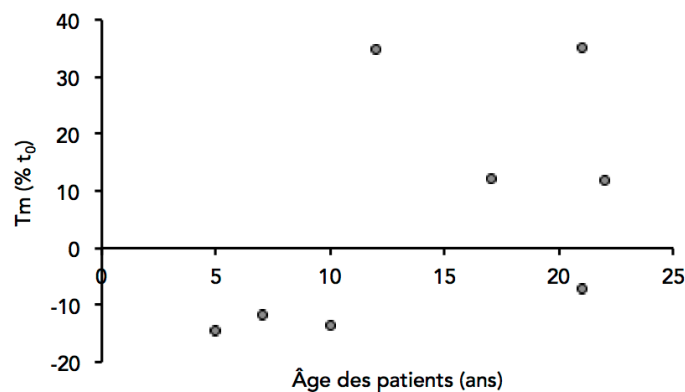


Figure 33: Évolution du délai entre le début de mouvement des fascicules musculaires et le début de production de force obtenu à t_{+1an} . Les patients atteints de la DMD sont matérialisés par des cercles gris. T_m : délai entre le début de mouvement des fascicules musculaires et le début de production de force. T_m est exprimé en pourcentage du T_m obtenu à t_0 .

Ainsi, contrairement à la chute de force, l'altération de la transmission de force semble être un mécanisme d'apparition plutôt tardive. Ce résultat corrobore donc notre hypothèse basée sur l'atteinte structurale du muscle (Cullen et Fulthorpe, 1975 ; Head et al., 1992 ; Chan et al., 2007). De fait, si ces résultats se confirment, cet indicateur pourrait être relativement intéressant à caractériser pour suivre l'évolution du patient.

4.3.2 Vers la caractérisation de nouveaux paramètres

L'étude #3 a mis en évidence une augmentation du temps nécessaire à la transmission de force du muscle au segment osseux chez les patients atteints de la DMD. Toutefois, l'atrophie musculaire et l'importante masse grasseuse sous cutanée rendent imprécise la localisation de la jonction myotendineuse, ne permettant pas la détection de son début de mouvement suite à une stimulation électrique musculaire. Il est donc actuellement impossible de dissocier la part « aponévrotique » et « tendineuse » de l'altération de la transmission de force induite par la DMD. Compte tenu de l'hypertrophie des fléchisseurs plantaires (Wokke et al., 2014) et de la taille du tendon d'Achille, nous supposons que l'identification de la jonction myotendineuse du *gastrocnemius medialis* sera plus aisée sur ce modèle musculaire. Nous proposons donc de reproduire le protocole expérimental de l'étude #3 sur le *gastrocnemius medialis* en déterminant le début de mouvement de la jonction myotendineuse (Nordez et al., 2009). Ce travail permettra de quantifier les contributions relatives de l'aponévrose et du tendon dans l'allongement du temps nécessaire à la transmission de la force chez les patients atteints de la DMD.

Le muscle possède un comportement isotrope transverse (Gennisson et al., 2010). Cette propriété implique que la vitesse de propagation de l'onde de cisaillement est différente selon les directions de l'espace (Gennisson et al., 2003, 2010 ; Royer et al., 2011) (figure 34). Plus précisément, lorsque l'onde se déplace parallèlement aux fascicules musculaires sa vitesse de propagation est maximale, *a contrario*, sa vitesse est minimale lorsqu'elle se déplace perpendiculairement aux fibres. Une récente étude a montré que l'anisotropie était réduite chez la souris *mdx* (Qin et al., 2014), c'est-à-dire que le rapport entre la vitesse de propagation longitudinale et transversale de l'onde de cisaillement était diminué. Or, nous avons montré que la raideur musculaire longitudinale était augmentée chez les patients atteints de la DMD (étude #4). Il semblerait donc que la raideur musculaire transversale augmente dans une plus grande proportion que la raideur longitudinale. En outre, cette étude révèle que l'anisotropie du tissu est inversement corrélée à la quantité de cellules nécrotiques

($r=0,701$) (Qin et al., 2014). Par conséquent l'évaluation de l'anisotropie pourrait également être un indicateur pertinent pour suivre l'évolution de la maladie. Toutefois, l'importante viscosité transversale du tissu musculaire (i.e., atténuation de l'onde) limite la capacité de la technique à mesurer la vitesse de l'onde de cisaillement dans cette direction (Gennisson et al., 2010), et nous n'avons pu réaliser des mesures transverses satisfaisantes.

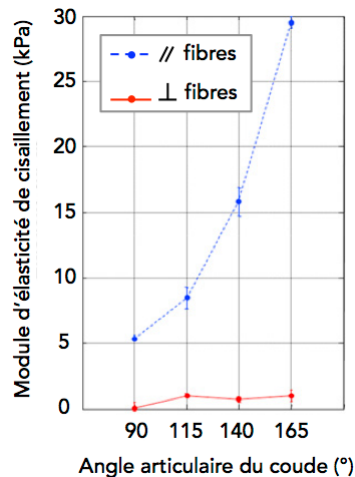


Figure 34: Influence de l'orientation de la sonde échographique sur la relation entre le module d'élasticité et l'angle articulaire. Évolution du module d'élasticité de cisaillement (kPa) du biceps brachii en fonction de l'angle articulaire du coude (°) lorsque la sonde est placée parallèlement (bleu) et perpendiculairement (rouge) aux fibres musculaires. Adaptée de Gennisson et al., (2010).

Si l'élasticité du muscle est une propriété informative sur la capacité intrinsèque du tissu à stocker de l'énergie potentielle élastique, son caractère visqueux traduit sa capacité à la dissiper (Fung, 1983). C'est pourquoi les propriétés viscoélastiques du muscle ont fait l'objet de nombreuses investigations (Fung, 1983 ; Cavagna, 1977 ; Bosco et al., 1982 ; Gajdosik, 2001 ; McNair et al., 2001, 2002), révélant leur rôle déterminant dans la performance motrice (e.g., Alexander et Bennet-Clark, 1977 ; Cavagna, 1977 ; Bosco et al., 1982). Comme énoncé section 1.1.3.2., la DMD affecte la viscosité du système musculo-tendineux (Hakim et al., 2011 ; Rizzuto et al., 2009). Ainsi, mesurer cette propriété mécanique permettrait de quantifier la capacité du muscle à transmettre la force de manière efficace (i.e., faible dissipation d'énergie). Cette information pourrait permettre de mieux comprendre la réduction de la force spécifique des patients atteints de la DMD (Akima et al., 2012 ; Wokke et al., 2014). La méthode d'élastographie SSI a déjà permis de mesurer la viscosité d'un muscle cible en condition active et passive chez des sujets sains (Gennisson et al., 2010). Il reste donc à déterminer la pertinence de cette mesure chez les patients atteints de la DMD.

4.3.3 Contributions pour l'évaluation « clinique » et le suivi de traitements

Compte tenu des contraintes matérielles et temporelles, le suivi « clinique » des qualités musculaires des patients atteints de la DMD est majoritairement basé sur l'évaluation de la force (testing musculaire) ou des capacités fonctionnelles/motrices des patients (test de 6 minutes de marche, échelles de la fonction motrice). Ces mesures permettent de suivre l'évolution du patient au cours de la maladie (McDonald et al., 2013) et d'estimer son niveau d'autonomie (Uchikawa et al., 2004). Toutefois, les performances obtenues par les patients sont étroitement liées à leur investissement et ne permettent pas d'identifier les structures/mécanismes musculaires progressivement atteints par la maladie, contribuant à l'échec de la tâche motrice.

La première partie de ce travail de thèse indique qu'au-delà de la capacité de production de force des patients, la transmission de la force des fibres musculaires au segment osseux est altérée. Cette information est particulièrement intéressante d'un point de vue « clinique » puisque cela suggère que pour une force musculaire donnée, la force recueillie au niveau du segment osseux est moindre. À l'heure actuelle, nous ne savons pas s'il est possible d'améliorer cette transmission de la force chez les patients atteints de la DMD. Toutefois, si nous considérons que le principal mécanisme explicatif de cette altération est la désorganisation structurale au sein du muscle, alors nous pouvons faire l'hypothèse qu'une prise en charge kinésithérapique pourrait s'avérer efficace. En effet, dans un contexte de régénération tissulaire, les mobilisations passives et les étirements, participent à organiser le tissu cicatriciel dans le sens des contraintes et à limiter la fibrose (pour revue, Järvinen et al., 2007). Il serait donc intéressant d'évaluer l'effet de cette prise en charge spécifique sur les capacités de transmission de force musculaire, et à plus long terme, déterminer si elle contribue à préserver l'autonomie du patient (i.e., augmentation de la force recueillie au niveau du segment pour une même force musculaire produite). Dans une seconde partie, nous avons démontré que les patients atteints de la DMD souffrent d'une augmentation de la raideur musculaire de repos. La méthode utilisée pour réaliser cette évaluation est particulièrement appropriée aux patients atteints de la DMD et aux contraintes « clinique » puisqu'elle permet une évaluation au repos, en temps réel, et est facile à appréhender par le patient (i.e., échographie « classique »). Par ailleurs, la modification de raideur contribue, avec la chute des capacités de production de force, à l'immobilisation des articulations des

patients et à leur perte d'autonomie (Hakim et al., 2011). De fait, il pourrait être pertinent d'évaluer la raideur des différents muscles croisant une articulation afin d'identifier le ou les muscle(s) participant majoritairement à l'immobilisation de celle-ci (e.g., fléchisseurs plantaires). Nous avons d'ailleurs montré que pour certains muscles (*gastrocnemius medialis*, *vastus lateralis*, *triceps brachii*), l'évaluation pouvait être effectuée à des longueurs musculaires raccourcies, ce qui est particulièrement important pour les patients à un stade avancé, i.e. présentant une réduction importante de l'amplitude articulaire maximale (McDonald et al., 1995). En outre, l'utilisation de cette méthode en routine « clinique » pourrait permettre au praticien de détecter une augmentation précoce de la raideur et d'orienter rapidement la prise en charge (e.g., systèmes orthétiques, kinésithérapie, myorelaxant, etc.). Par ce biais, il pourrait être possible de réduire les risques de déformations articulaires, repousser la chirurgie (e.g., tendon d'Achille), ou encore prolonger l'autonomie du patient.

Comme évoqué au début de cette section, les deux techniques développées dans ce travail de thèse permettent d'investiguer les propriétés contractiles et élastiques d'un muscle cible. Or, la première étape des essais cliniques consiste classiquement à des injections intramusculaires au sein de muscles spécifiques (Pinheiro et al., 2012 ; Lessa et al., 2012 ; Bonuccelli et al., 2007). Cette démarche nécessite donc d'être en mesure d'évaluer les propriétés de celui/ceux-ci. Dans ce contexte, l'évaluation des propriétés contractiles permettrait de renseigner de la force maximale évoquée, et de l'efficacité des composantes électrochimiques et mécaniques du DEM. Ceci pourrait notamment documenter le rôle d'une réexpression de dystrophine sur la capacité de production force du muscle, mais aussi sur son aptitude à la transmettre. La quantification de la raideur locale d'un muscle cible pourrait également mettre en évidence l'efficacité d'un traitement. En effet, nous pourrions évaluer la relation entre les changements de raideur induits par le traitement et leur conséquence sur les capacités fonctionnelles des patients. Nous pouvons d'ailleurs faire l'hypothèse que pour un même niveau de couple externe développé par les fléchisseurs dorsaux de la cheville (e.g., *tibialis anterior*), une diminution de la raideur des muscles antagonistes (fléchisseurs plantaires) va « faciliter » la dorsiflexion du pied, et donc les capacités ambulatoires des patients atteints de la DMD. Une diminution de la raideur musculaire pourrait donc, au même titre que l'amélioration des capacités de production de force, favoriser l'autonomie des patients. Aussi, la répétition de cette mesure sur les muscles adjacents à celui injecté, pourrait renseigner rapidement et de manière objective sur le potentiel d'expansion du traitement

administré. Ces deux méthodes pourraient également être utilisées pour quantifier l'effet d'un traitement administré par voie systémique. En effet, l'utilisation de mesures locales permettrait de déterminer la capacité du traitement à investir certains muscles et à modifier leurs propriétés contractiles et élastiques.

Conclusion

Pour conclure, nous montrons que la dystrophie musculaire de Duchenne affecte les propriétés musculaires contractiles et élastiques. Le délai nécessaire à la transmission de force des fascicules musculaires du *biceps brachii* au segment osseux est nettement augmenté chez les patients atteints de la DMD (+ 75 %) et s'accroît avec l'âge ($r=0,66$). Le suivi longitudinal que nous avons réalisé met en évidence la sensibilité de cet indice à l'évolution de la maladie, et plus particulièrement chez les patients âgés de plus de 10 ans. Le développement progressif d'anomalies structurales au sein du muscle est une des hypothèses explicatives de ces résultats. Par ailleurs, nous avons observé une augmentation de raideur chez les patients atteints de la DMD pour 5 des 6 muscles évalués. La « préservation » des propriétés mécaniques de *l'abductor digiti mini* corrobore l'atteinte tardive des muscles distaux des membres supérieurs. L'augmentation progressive de la raideur du *gastrocnemius medialis* avec l'âge des patients atteints de la DMD ($r=0,74$) traduit l'apparition de structures (e.g., tissu fibreux) et mécanismes (e.g., perturbations de l'homéostasie calcique) contribuant à « rigidifier » le tissu musculaire. L'absence d'évolution pour les autres muscles est imputable à d'éventuelles compensations avec des mécanismes « limitant » l'augmentation de la raideur mesurée (e.g., infiltrations adipeuses), ou à la pluralité des phénotypes existants dans la DMD. Les données provenant du suivi longitudinal permettront de répondre à cette question. Enfin, les résultats de ce travail pourraient bénéficier au suivi « clinique » et à l'évaluation des effets de traitements administrés à des patients atteints de la DMD. En effet, parallèlement aux mesures fonctionnelles, ses évaluations non-invasives, locales (i.e., muscle cible), indépendantes de l'investissement des patients et, *a priori*, sensibles au stade de la maladie, pourraient représenter des indicateurs objectifs pour décrire l'évolution de la maladie (quelles structures, quels muscles), « guider » la prise en charge kinésithérapique (étirement d'un muscle cible, orthèses, etc.), et quantifier les effets de thérapies localisées ou administrées par voie systémique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Aagaard, P., Andersen, J.L., Dyhre-Poulsen, P., Leffers, A.M., Wagner, A., Magnusson, S.P., Halkjaer-Kristensen, J., Simonsen, E.B., 2001. A mechanism for increased contractile strength of human pennate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. *The Journal of physiology* 534, 613-623.

Adams, G.R., Harris, R.T., Woodard, D., Dudley, G.A., 1993. Mapping of electrical muscle stimulation using MRI. *Journal of applied physiology* 74, 532-537.

Agre, J.C., Sliwa, J.A., 2000. Neuromuscular rehabilitation and electrodiagnosis. 4. Specialized neuropathy. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 81, S27-31; quiz S36-44.

Aitkens, S., Lord, J., Bernauer, E., Fowler, W.M., Jr., Lieberman, J.S., Berck, P., 1989. Relationship of manual muscle testing to objective strength measurements. *Muscle & nerve* 12, 173-177.

Akima, H., Lott, D., Senesac, C., Deol, J., Germain, S., Arpan, I., Bendixen, R., Lee Sweeney, H., Walter, G., Vandenborne, K., 2012. Relationships of thigh muscle contractile and non-contractile tissue with function, strength, and age in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders: NMD* 22, 16-25.

Alderton, J.M., Steinhardt, R.A., 2000. How calcium influx through calcium leak channels is responsible for the elevated levels of calcium-dependent proteolysis in dystrophic myotubes. *Trends in cardiovascular medicine* 10, 268-272.

Allard, B., Couchoux, H., Pouvreau, S., Jacquemond, V., 2006. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release and depletion fail to affect sarcolemmal ion channel activity in mouse skeletal muscle. *The Journal of physiology* 575, 69-81.

Allen, D.G., Whitehead, N.P., 2011. Duchenne muscular dystrophy--what causes the increased membrane permeability in skeletal muscle? *The international journal of biochemistry & cell biology* 43, 290-294.

Arahata, K., Ishiura, S., Ishiguro, T., Tsukahara, T., Suhara, Y., Eguchi, C., Ishihara, T., Nonaka, I., Ozawa, E., Sugita, H., 1988. Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. *Nature* 333, 861-863.

Arai, Y., Osawa, M., Fukuyama, Y., 1995. Muscle CT scans in preclinical cases of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Brain & development* 17, 95-103.

ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories, 2002. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *American journal of respiratory critical care medicine* 166, 111-117.

Bach, J.R., Ishikawa, Y., Kim, H., 1997. Prevention of pulmonary morbidity for patients with Duchenne muscular dystrophy. *Chest* 112, 1024-1028.

Backman, E., Henriksson, K.G., 1995. Low-dose prednisolone treatment in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD* 5, 233-241.

Banks, G.B., Chamberlain, J.S., Froehner, S.C., 2009. Truncated dystrophins can influence neuromuscular synapse structure. *Molecular and cellular neurosciences* 40, 433-441.

Barry, D.T., Hill, T., Im, D., 1992. Muscle fatigue measured with evoked muscle vibrations. *Muscle & nerve* 15, 303-309.

Basford, J.R., Jenkyn, T.R., An, K.N., Ehman, R.L., Heers, G., Kaufman, K.R., 2002. Evaluation of healthy and diseased muscle with magnetic resonance elastography. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 83, 1530-1536.

Beggs, A.H., 1997. Dystrophinopathy, the expanding phenotype. Dystrophin abnormalities in X-linked dilated cardiomyopathy. *Circulation* 95, 2344-2347.

Bell, C.D., Conen, P.E., 1968. Histopathological changes in Duchenne muscular dystrophy. *Journal of the Neurological Sciences* 7, 529-544.

Bensamoun, S.F., Ringleb, S.I., Chen, Q., Ehman, R.L., An, K.N., Brennan, M., 2007. Thigh muscle stiffness assessed with magnetic resonance elastography in hyperthyroid patients before and after medical treatment. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 26, 708-713.

Bensamoun, S.F., Ringleb, S.I., Littrell, L., Chen, Q., Brennan, M., Ehman, R.L., An, K.N., 2006. Determination of thigh muscle stiffness using magnetic resonance elastography. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 23, 242-247.

Bensamoun, S.F., Wang, L., Robert, L., Charleux, F., Latrive, J.P., Ho Ba Tho, M.C., 2008. Measurement of liver stiffness with two imaging techniques: magnetic resonance elastography and ultrasound elastometry. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 28, 1287-1292.

Berchtold, M.W., Brinkmeier, H., Muntener, M., 2000. Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiological reviews* 80, 1215-1265.

Bercoff, J., Tanter, M., Fink, M., 2004. Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on* 51, 396-409.

Berquin, A., Schmit, P., Moens, P., Lebacqz, J., 1994. Compliance of normal, dystrophic and transplanted mouse muscles. *Journal of biomechanics* 27, 1331-1337.

Bianchi, S., Baert, A.L., Abdelwahab, I.F., Derchi, L.E., Martinoli, C., Rizzatto, G., Valle, Zamorani, M.P., 2007. *Ultrasound of the musculoskeletal system*. In: Springer (Ed. Science & Business).

Binzoni, T., Bianchi, S., Hanquinet, S., Kaelin, A., Sayegh, Y., Dumont, M., Jequier, S., 2001. Human gastrocnemius medialis pennation angle as a function of age: from newborn to the elderly. *Journal of physiological anthropology and applied human science* 20, 293-298.

Binzoni, T., Leung, T., Hollis, V., Bianchi, S., Fasel, J.H., Bounameaux, H., Hiltbrand, E., Delpy, D., 2003. Human tibia bone marrow: defining a model for the study of haemodynamics as a function of age by near infrared spectroscopy. *Journal of physiological anthropology and applied human science* 22, 211-218.

Bischoff, R., Heintz, C., 1994. Enhancement of skeletal muscle regeneration. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 201, 41-54.

Blaauw, B., Agatea, L., Toniolo, L., Canato, M., Quarta, M., Dyar, K.A., Danieli-Betto, D., Betto, R., Schiaffino, S., Reggiani, C., 2010. Eccentric contractions lead to myofibrillar dysfunction in muscular dystrophy. *J Appl Physiol* (1985) 108, 105-111.

Blake, D.J., Weir, A., Newey, S.E., Davies, K.E., 2002. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. *Physiological reviews* 82, 291-329.

Bonilla, E., Schmidt, B., Samitt, C.E., Miranda, A.F., Hays, A.P., de Oliveira, A.B., Chang, H.W., Servidei, S., Ricci, E., Younger, D.S., 1988. Normal and dystrophin-deficient muscle fibers in carriers of the gene for Duchenne muscular dystrophy. *The American journal of pathology* 133, 440-445.

Bradley, W.G., Hudgson, P., Larson, P.F., Papapetropoulos, T.A., Jenkison, M., 1972. Structural changes in the early stages of Duchenne muscular dystrophy. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 35, 451-455.

Brooke, M.H., Fenichel, G.M., Griggs, R.C., Mendell, J.R., Moxley, R., Florence, J., King, W.M., Pandya, S., Robison, J., Schierbecker, J., et al., 1989. Duchenne muscular dystrophy: patterns of clinical progression and effects of supportive therapy. *Neurology* 39, 475-481.

Brooke, M.H., Griggs, R.C., Mendell, J.R., Fenichel, G.M., Shumate, J.B., 1981. The natural history of Duchenne muscular dystrophy: a caveat for therapeutic trials. *Transactions of the American Neurological Association* 106, 195-199.

Burgess, K.E., Connick, M.J., Graham-Smith, P., Pearson, S.J., 2007. Plyometric vs. isometric training influences on tendon properties and muscle output. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association* 21, 986-989.

Call, J.A., Warren, G.L., Verma, M., Lowe, D.A., 2013. Acute failure of action potential conduction in mdx muscle reveals new mechanism of contraction-induced force loss. *The Journal of physiology* 591, 3765-3776.

Canon, F., Goubel, F., 1995. Changes in stiffness induced by hindlimb suspension in rat soleus muscle. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 429, 332-337.

Carpenter, S., Karpati, G., 2001. *Pathology of Skeletal Muscle*. 2nd Ed. Oxford University Press.

Catheline, S., 1998. *Interferometrie-speckle ultrasonore : application à la mesure d'élasticité*. Thèse de doctorat. Université de Paris VII.

Catheline, S., Thomas, J.L., Wu, F., Fink, M.A., 1999. Diffraction field of a low frequency vibrator in soft tissues using transient elastography. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 46, 1013-1019.

Cavagna, G.A., 1977. Storage and utilization of elastic energy in skeletal muscle. *Exercise and sport sciences reviews* 5, 89-129.

Chabrol, B., Dulac, O., Mancini, J., Ponsot, G., Arthuis, M., 2010. *Manuel de Neurologie pédiatrique*. 3^{ème} Édition. LAVOISIER MSP.

- Childers, M.K., Okamura, C.S., Bogan, D.J., Bogan, J.R., Petroski, G.F., McDonald, K., Kornegay, J.N., 2002. Eccentric contraction injury in dystrophic canine muscle. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 83, 1572-1578.
- Clafin, D.R., Brooks, S.V., 2008. Direct observation of failing fibers in muscles of dystrophic mice provides mechanistic insight into muscular dystrophy. *Am J Physiol Cell Physiol* 294, C651-658.
- Close, R.I., 1981. Activation delays in frog twitch muscle fibres. *The Journal of physiology* 313, 81-100.
- Coirault, C., Lambert, F., Marchand-Adam, S., Attal, P., Chemla, D., Lecarpentier, Y., 1999. Myosin molecular motor dysfunction in dystrophic mouse diaphragm. *The American journal of physiology* 277, C1170-1176.
- Cornu, C., Goubel, F., Fardeau, M., 1998. Stiffness of knee extensors in duchenne muscular dystrophy. *Muscle & Nerve* 21, 1772-1774.
- Cornu, C., Goubel, F., Fardeau, M., 2001. Muscle and joint elastic properties during elbow flexion in Duchenne muscular dystrophy. *The Journal of physiology* 533, 605-616.
- Cronin, N.J., Carty, C.P., Barrett, R.S., Lichtwark, G., 2011. Automatic tracking of medial gastrocnemius fascicle length during human locomotion. *Journal of applied physiology* 111, 1491-1496.
- Cros, D., Harnden, P., Pellissier, J.F., Serratrice, G., 1989. Muscle hypertrophy in Duchenne muscular dystrophy. A pathological and morphometric study. *Journal of neurology* 236, 43-47.
- Cullen, M.J., Fulthorpe, J.J., 1975. Stages in fibre breakdown in Duchenne muscular dystrophy. An electron-microscopic study. *Journal of the neurological sciences* 24, 179-200.
- De Luca, A., Pierno, S., Camerino, D.C., 1997. Electrical properties of diaphragm and EDL muscles during the life of dystrophic mice. *The American journal of physiology* 272, C333-340.
- Debernard, L., Robert, L., Charleux, F., Bensamoun, S.F., 2013. A possible clinical tool to depict muscle elasticity mapping using magnetic resonance elastography. *Muscle & nerve* 47, 903-908.
- Deffieux, T., 2008. Palpation par force de radiation ultrasonore et échographie ultrarapide : Applications à la caractérisation tissulaire in vivo. Thèse de doctorat. Université Paris VII.
- Deffieux, T., Gennisson, J.-I., Tanter, M., Fink, M., 2008. Assessment of the mechanical properties of the musculoskeletal system using 2-D and 3-D very high frame rate ultrasound. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control* 55, 2177-2190.
- Deffieux, T., Gennisson, J.-L., Tanter, M.I., Fink, M., Nordez, A., 2006. Ultrafast imaging of in vivo muscle contraction using ultrasound. *Applied Physics Letters* 89, 184107.
- Delitto, A., 1990. Isokinetic dynamometry. *Muscle & nerve* 13 Suppl, S53-57.

Desguerre, I., Mayer, M., Christov, C., Leturcq, F., Chelly, J., Gherardi, R.K., 2009. [Phenotypic heterogeneity of Duchenne myopathy and prognosis criteria]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie* 16, 681-683.

Disatnik, M.H., Dhawan, J., Yu, Y., Beal, M.F., Whirl, M.M., Franco, A.A., Rando, T.A., 1998. Evidence of oxidative stress in mdx mouse muscle: studies of the pre-necrotic state. *Journal of the neurological sciences* 161, 77-84.

Douglas, A.G., Wood, M.J., 2013. Splicing therapy for neuromuscular disease. *Molecular and cellular neurosciences* 56, 169-185.

Dresner, M.A., Rose, G.H., Rossman, P.J., Muthupillai, R., Manduca, A., Ehman, R.L., 2001. Magnetic resonance elastography of skeletal muscle. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 13, 269-276.

Dubowitz, V., Brooke, M.H., 1973. *Muscle Biopsy: A Modern Approach*. Saunders, London.

Duchenne, 1867. The Pathology of Paralysis with Muscular Degeneration (Paralysie Myosclerotique), or Paralysis with Apparent Hypertrophy. *British medical journal* 2, 541-542.

Duchenne, G.B., 1968. Studies on pseudohypertrophic muscular paralysis or myosclerotic paralysis. *Archives of neurology* 19, 629-636.

Duncan, C.J., 1978. Role of intracellular calcium in promoting muscle damage: a strategy for controlling the dystrophic condition. *Experientia* 34, 1531-1535.

Eagle, M., Bourke, J., Bullock, R., Gibson, M., Mehta, J., Giddings, D., Straub, V., Bushby, K., 2007. Managing Duchenne muscular dystrophy--the additive effect of spinal surgery and home nocturnal ventilation in improving survival. *Neuromuscular disorders : NMD* 17, 470-475.

Eberhard Merz, F.B., 2005. *Ultrasound in obstetrics and gynecology*. In: Atlas, T.b.a. (Ed.), Thieme.

Eby, S.F., Song, P., Chen, S., Chen, Q., Greenleaf, J.F., An, K.N., 2013. Validation of shear wave elastography in skeletal muscle. *Journal of biomechanics* 46, 2381-2387.

Emery, A.E., Emery, M.L., 1993. Edward Meryon (1809-1880) and muscular dystrophy. *Journal of medical genetics* 30, 506-511.

Emery, A.E., 2002. The muscular dystrophies. *The Lancet* 359, 687-695.

Eric P. Hoffman, J.R.M.G., 1991. Chapter 8 The Animal Models of Duchenne Muscular Dystrophy: Windows on the Pathophysiological Consequences of Dystrophin Deficiency.

Ervasti, J.M., 2007. Dystrophin, its interactions with other proteins, and implications for muscular dystrophy. *Biochimica et biophysica acta* 1772, 108-117.

Escolar, D.M., Buyse, G., Henricson, E., Leshner, R., Florence, J., Mayhew, J., Tesi-Rocha, C., Gorni, K., Pasquali, L., Patel, K.M., McCarter, R., Huang, J., Mayhew, T., Bertorini, T., Carlo, J., Connolly, A.M., Clemens, P.R., Goemans, N., Iannaccone, S.T., Igarashi, M., Nevo, Y., Pestronk, A.,

Subramony, S.H., Vedanarayanan, V.V., Wessel, H., 2005. CINRG randomized controlled trial of creatine and glutamine in Duchenne muscular dystrophy. *Annals of neurology* 58, 151-155.

Escolar, D.M., Henricson, E.K., Mayhew, J., Florence, J., Leshner, R., Patel, K.M., Clemens, P.R., 2001. Clinical evaluator reliability for quantitative and manual muscle testing measures of strength in children. *Muscle & nerve* 24, 787-793.

Fink, R.H., Stephenson, D.G., Williams, D.A., 1990. Physiological properties of skinned fibres from normal and dystrophic (Duchenne) human muscle activated by Ca²⁺ and Sr²⁺. *The Journal of physiology* 420, 337-353.

Firth, M., Gardner-Medwin, D., Hosking, G., Wilkinson, E., 1983. Interviews with parents of boys suffering from Duchenne muscular dystrophy. *Developmental medicine and child neurology* 25, 466-471.

Florence J, S.J., 1989. The use of the lido active isokinetic system in Duchenne muscular dystrophy. *Physical therapy* 69, 370-371.

Fortier, S., Basset, F.A., Mbourou, G.A., Faverial, J., Teasdale, N., 2005. Starting Block Performance in Sprinters: A Statistical Method for Identifying Discriminative Parameters of the Performance and an Analysis of the Effect of Providing Feedback over a 6-Week Period. *Journal of sports science & medicine* 4, 134-143.

Foulks, J.G., Perry, F.A., 1966. The time course of early changes in the rate of tension development in electrically-stimulated frog toe muscle: effects of muscle length, temperature and twitch-potentiators. *The Journal of physiology* 185, 355-381.

Friden, J., Lieber, R.L., 1992. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Medicine and science in sports and exercise* 24, 521-530.

Fukudome, T., Shibuya, N., Yoshimura, T., Eguchi, K., 2000. Short-term effects of prednisolone on neuromuscular transmission in the isolated mdx mouse diaphragm. *The Tohoku journal of experimental medicine* 192, 211-217.

Fung, Y., 1983. *Biomechanics: Mechanical Properties of Living*. Springer-Verlag, New York.

Gaeta, M., Messina, S., Mileto, A., Vita, G.L., Ascenti, G., Vinci, S., Bottari, A., Vita, G., Settineri, N., Bruschetta, D., Racchiusa, S., Minutoli, F., 2012. Muscle fat-fraction and mapping in Duchenne muscular dystrophy: evaluation of disease distribution and correlation with clinical assessments. Preliminary experience. *Skeletal radiology* 41, 955-961.

Gailly, P., De Backer, F., Van Schoor, M., Gillis, J.M., 2007. In situ measurements of calpain activity in isolated muscle fibres from normal and dystrophin-lacking mdx mice. *The Journal of physiology* 582, 1261-1275.

Gajdosik, R.L., Vander Linden, D.W., McNair, P.J., Riggin, T.J., Albertson, J.S., Mattick, D.J., Wegley, J.C., 2005. Viscoelastic properties of short calf muscle-tendon units of older women: effects of slow and fast passive dorsiflexion stretches in vivo. *European journal of applied physiology* 95, 131-139.

Garner, B.A., Pandy, M.G., 2003. Estimation of musculotendon properties in the human upper limb. *Annals of biomedical engineering* 31, 207-220.

Gennisson, J.L., 2003. Le palpeur acoustique : un nouvel outil d'investigation des tissus biologiques. Thèse de doctorat. Université de Paris VI.

Gennisson, J.L., Catheline, S., Chaffai, S., Fink, M., 2003. Transient elastography in anisotropic medium: application to the measurement of slow and fast shear wave speeds in muscles. *The Journal of the Acoustical Society of America* 114, 536-541.

Gennisson, J.L., Deffieux, T., Mace, E., Montaldo, G., Fink, M., Tanter, M., 2010. Viscoelastic and anisotropic mechanical properties of in vivo muscle tissue assessed by supersonic shear imaging. *Ultrasound in medicine & biology* 36, 789-801.

Gorospe, R., Bronwen, K., Nishikawa, N., Hoffman, E., 1997. Pathophysiology of dystrophin deficiency: a clinical and biological enigma. In *Dystrophin : gene, protein and cell biology*. Brown, S.C., Lucy, J.A., Cambridge University Press.

Goubel, F., & Lensele-Corbeil, G., 2003. *Biomécanique: éléments de mécanique musculaire*.

Goubel, F., Pertuzon, E., 1973. [Evaluation of the elasticity of muscle in situ by the quick-release method]. *Archives internationales de physiologie et de biochimie* 81, 697-707.

Granata, K.P., Ikeda, A.J., Abel, M.F., 2000. Electromechanical delay and reflex response in spastic cerebral palsy. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 81, 888-894.

Gregory, C.M., Bickel, C.S., 2005. Recruitment patterns in human skeletal muscle during electrical stimulation. *Physical therapy* 85, 358-364.

Grosset, J.F., Piscione, J., Lambertz, D., Perot, C., 2009. Paired changes in electromechanical delay and musculo-tendinous stiffness after endurance or plyometric training. *European journal of applied physiology* 105, 131-139.

Gunther, M., Blickhan, R., 2002. Joint stiffness of the ankle and the knee in running. *Journal of biomechanics* 35, 1459-1474.

Hakim, C.H., Duan, D., 2013. Truncated dystrophins reduce muscle stiffness in the extensor digitorum longus muscle of mdx mice. *Journal of applied physiology* 114, 482-489.

Hakim, C.H., Grange, R.W., Duan, D., 2011. The passive mechanical properties of the extensor digitorum longus muscle are compromised in 2- to 20-mo-old mdx mice. *Journal of applied physiology* 110, 1656-1663.

Head, S.I., Williams, D.A., Stephenson, D.G., 1992. Abnormalities in structure and function of limb skeletal muscle fibres of dystrophic mdx mice. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 248, 163-169.

Heckmatt, J.Z., Dubowitz, V., Leeman, S., 1980. Detection of pathological change in dystrophic muscle with B-scan ultrasound imaging. *Lancet* 1, 1389-1390.

Heers, G., Jenkyn, T., Dresner, M.A., Klein, M.O., Basford, J.R., Kaufman, K.R., Ehman, R.L., An, K.N., 2003. Measurement of muscle activity with magnetic resonance elastography. *Clinical biomechanics* (Bristol, Avon) 18, 537-542.

Herbert, R.D., Clarke, J., Kwah, L.K., Diong, J., Martin, J., Clarke, E.C., Bilston, L.E., Gandevia, S.C., 2011. In vivo passive mechanical behaviour of muscle fascicles and tendons in human gastrocnemius muscle-tendon units. *The Journal of physiology* 589, 5257-5267.

Hill, A.V., 1949. The onset of contraction. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers of a Biological character. Royal Society (Great Britain)* 136, 242-254.

Hodges, P.W., Bui, B.H., 1996. A comparison of computer-based methods for the determination of onset of muscle contraction using electromyography. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 101, 511-519.

Hoffman, E.P., Brown, R.H., Jr, Kunkel, L.M., 1987. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell* 51, 919-928.

Hogrel, J.Y., Ollivier, G., Desnuelle, C., 2006. [Manual and quantitative muscle testing in neuromuscular disorders. How to assess the consistency of strength measurements in clinical trials?]. *Revue neurologique* 162, 427-436.

Hollingworth, S., Marshall, M.W., Robson, E., 1990. Excitation contraction coupling in normal and mdx mice. *Muscle & nerve* 13, 16-20.

Holmes, J.H., 1974. "Diagnostic ultrasound: historical perspective". *Diagnostic Ultrasound*.

Holtermann, A., Roeleveld, K., Karlsson, J.S., 2005. Inhomogeneities in muscle activation reveal motor unit recruitment. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology* 15, 131-137.

Hopkins, J.T., Feland, J.B., Hunter, I., 2007. A comparison of voluntary and involuntary measures of electromechanical delay. *The International journal of neuroscience* 117, 597-604.

Hudgson, P., Pearce, G.W., Walton, J.N., 1967. Pre-clinical muscular dystrophy: histopathological changes observed on muscle biopsy. *Brain : a journal of neurology* 90, 565-576.

Hug, F., Gallot, T., Catheline, S., Nordez, A., 2011a. Electromechanical delay in biceps brachii assessed by ultrafast ultrasonography. *Muscle & nerve* 43, 441-443.

Hug, F., Lacourpaille, L., Nordez, A., 2011b. Electromechanical delay measured during a voluntary contraction should be interpreted with caution. *Muscle & nerve* 44, 838-839.

Huijing, P.A., 1999. Muscle as a collagen fiber reinforced composite: a review of force transmission in muscle and whole limb. *Journal of biomechanics* 32, 329-345.

Janssen, P.M., Murray, J.D., Schill, K.E., Rastogi, N., Schultz, E.J., Tran, T., Raman, S.V., Rafael-Fortney, J.A., 2014. Prednisolone attenuates improvement of cardiac and skeletal contractile function and histopathology by lisinopril and spironolactone in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *PloS one* 9, e88360.

Jarvinen, T.A., Jarvinen, T.L., Kaariainen, M., Kalimo, H., Jarvinen, M., 2005. Muscle injuries: biology and treatment. *The American journal of sports medicine* 33, 745-764.

Jenkyn, T.R., Ehman, R.L., An, K.N., 2003. Noninvasive muscle tension measurement using the novel technique of magnetic resonance elastography (MRE). *Journal of biomechanics* 36, 1917-1921.

Jeon, H.S., Kang, S.Y., Park, J.H., Lee, H.S., 2014. Effects of pulsed electromagnetic field therapy on delayed-onset muscle soreness in biceps brachii. *Physical therapy in sport : official journal of the Association of Chartered Physiotherapists in Sports Medicine*.

Jubeau, M., Gondin, J., Martin, A., Sartorio, A., Maffiuletti, N.A., 2007. Random motor unit activation by electrostimulation. *International journal of sports medicine* 28, 901-904.

Karamanidis, K., Arampatzis, A., 2006. Mechanical and morphological properties of human quadriceps femoris and triceps surae muscle-tendon unit in relation to aging and running. *Journal of biomechanics* 39, 406-417.

Kardel, T., 1990. Niels Stensen's geometrical theory of muscle contraction (1667): a reappraisal. *Journal of biomechanics* 23, 953-965.

Kawakami, Y., Abe, T., Kuno, S.Y., Fukunaga, T., 1995. Training-induced changes in muscle architecture and specific tension. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 72, 37-43.

Kieny, P., Chollet, S., Delalande, P., Le Fort, M., Magot, A., Pereon, Y., Perrouin Verbe, B., 2013. Evolution of life expectancy of patients with Duchenne muscular dystrophy at AFM Yolaine de Kepper centre between 1981 and 2011. *Annals of physical and rehabilitation medicine* 56, 443-454.

Kim, H.K., Laor, T., Horn, P.S., Racadio, J.M., Wong, B., Dardzinski, B.J., 2010. T2 mapping in Duchenne muscular dystrophy: distribution of disease activity and correlation with clinical assessments. *Radiology* 255, 899-908.

Kinali, M., Arechavala-Gomez, V., Cirak, S., Glover, A., Guglieri, M., Feng, L., Hollingsworth, K.G., Hunt, D., Jungbluth, H., Roper, H.P., Quinlivan, R.M., Gosalakkal, J.A., Jayawant, S., Nadeau, A., Hughes-Carre, L., Manzur, A.Y., E. Mercuri, Morgan, J.E., Straub, V., Bushby, K., Sewry, C., Rutherford, M., Muntoni, F., 2011. Muscle histology vs MRI in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*.

Kinali, M., Main, M., Eliahoo, J., Messina, S., Knight, R.K., Lehovsky, J., Edge, G., Mercuri, E., Manzur, A.Y., Muntoni, F., 2007. Predictive factors for the development of scoliosis in Duchenne muscular dystrophy. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society* 11, 160-166.

Kirk, T., Saha, S., Bowman, L.S., 2000. A new ankle laxity tester and its use in the measurement of the effectiveness of taping. *Medical engineering & physics* 22, 723-731.

Kirschner, J., Schessl, J., Schara, U., Reitter, B., Stettner, G.M., Hobbiebrunken, E., Wilichowski, E., Bernert, G., Weiss, S., Stehling, F., Wiegand, G., Muller-Felber, W., Thiele, S., Grieben, U., von der Hagen, M., Lutschg, J., Schmoor, C., Ihorst, G., Korinthenberg, R., 2010. Treatment of Duchenne

muscular dystrophy with ciclosporin A: a randomised, double-blind, placebo-controlled multicentre trial. *The Lancet. Neurology* 9, 1053-1059.

Koenig, M., Beggs, A.H., Moyer, M., Scherpf, S., Heindrich, K., Bettecken, T., Meng, G., Muller, C.R., Lindlof, M., Kaariainen, H., et al., 1989. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion. *American journal of human genetics* 45, 498-506.

Koo, T.K., Guo, J.Y., Cohen, J.H., Parker, K.J., 2013. Relationship between shear elastic modulus and passive muscle force: an ex-vivo study. *Journal of biomechanics* 46, 2053-2059.

Kottlors, M., Kirschner, J., 2010. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell and tissue research* 340, 541-548.

Kroll, W., 1974. Fractionated reaction and reflex time before and after fatiguing isotonic exercise. *Medicine and science in sports* 6, 260-266.

Kubo, K., Akima, H., Kouzaki, M., Ito, M., Kawakami, Y., Kanehisa, H., Fukunaga, T., 2000. Changes in the elastic properties of tendon structures following 20 days bed-rest in humans. *European journal of applied physiology* 83, 463-468.

Kubo, K., Kanehisa, H., Azuma, K., Ishizu, M., Kuno, S.Y., Okada, M., Fukunaga, T., 2003. Muscle architectural characteristics in young and elderly men and women. *International journal of sports medicine* 24, 125-130.

Kubo, K., Kanehisa, H., Kawakami, Y., Fukunaga, T., 2001. Effects of repeated muscle contractions on the tendon structures in humans. *European journal of applied physiology* 84, 162-166.

Kubo, K., Yata, H., Kanehisa, H., Fukunaga, T., 2006. Effects of isometric squat training on the tendon stiffness and jump performance. *European journal of applied physiology* 96, 305-314.

Lacourpaille, L., Hug, F., Bouillard, K., Hogrel, J.Y., Nordez, A., 2012. Supersonic shear imaging provides a reliable measurement of resting muscle shear elastic modulus. *Physiological measurement* 33, N19-28.

Leong, H.T., Ng, G.Y., Leung, V.Y., Fu, S.N., 2013. Quantitative estimation of muscle shear elastic modulus of the upper trapezius with supersonic shear imaging during arm positioning. *PloS one* 8, e67199.

Lerario, A., Bonfiglio, S., Sormani, M., Tettamanti, A., Marktel, S., Napolitano, S., Previtali, S., Scarlato, M., Natali-Sora, M., Mercuri, E., Bresolin, N., Mongini, T., Comi, G., Gatti, R., Ciceri, F., Cossu, G., Torrente, Y., 2012. Quantitative muscle strength assessment in duchenne muscular dystrophy: longitudinal study and correlation with functional measures. *BMC neurology* 12, 91.

Liu, G.C., Jong, Y.J., Chiang, C.H., Jaw, T.S., 1993. Duchenne muscular dystrophy: MR grading system with functional correlation. *Radiology* 186, 475-480.

Louis, M., Lebacqz, J., Poortmans, J.R., Belpaire-Dethiou, M.C., Devogelaer, J.P., Van Hecke, P., Goubel, F., Francaux, M., 2003. Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle & nerve* 27, 604-610.

Lu, J.Y., 1997. Designing limited diffraction beams. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 44, 181-193.

Lu, J.Y., 1998. Experimental study of high frame rate imaging with limited diffraction beams. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 45, 84-97.

Lynch, G.S., Hinkle, R.T., Chamberlain, J.S., Brooks, S.V., Faulkner, J.A., 2001. Force and power output of fast and slow skeletal muscles from mdx mice 6-28 months old. *The Journal of physiology* 535, 591-600.

Maffiuletti, N.A., 2010a. Assessment of hip and knee muscle function in orthopaedic practice and research. *The Journal of bone and joint surgery. American volume* 92, 220-229.

Maffiuletti, N.A., 2010b. Physiological and methodological considerations for the use of neuromuscular electrical stimulation. *European journal of applied physiology* 110, 223-234.

Maganaris, C.N., Paul, J.P., 1999. In vivo human tendon mechanical properties. *The Journal of physiology* 521 Pt 1, 307-313.

Maganaris, C.N., Paul, J.P., 2002. Tensile properties of the in vivo human gastrocnemius tendon. *Journal of biomechanics* 35, 1639-1646.

Maisetti, O., Hug, F., Bouillard, K., Nordez, A., 2012. Characterization of passive elastic properties of the human medial gastrocnemius muscle belly using supersonic shear imaging. *Journal of biomechanics* 45, 978-984.

Marden, F.A., Connolly, A.M., Siegel, M.J., Rubin, D.A., 2005. Compositional analysis of muscle in boys with Duchenne muscular dystrophy using MR imaging. *Skeletal radiology* 34, 140-148.

Marques, M.J., Matsumura, C.Y., Santo Neto, H., 2007. Alterations in the permeability of dystrophic fibers during neuromuscular junction development. *Acta biologica Hungarica* 58, 1-9.

Mattar, F.L., Sobreira, C., 2008. Hand weakness in Duchenne muscular dystrophy and its relation to physical disability. *Neuromuscular disorders : NMD* 18, 193-198.

McComas, A.J., Sica, R.E.P., Currie, S., 1971. An electrophysiological study of Duchenne dystrophy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 34, 461-468.

McComas, A.J., Sica, R.E.P., Brandstater., M.E., 1977. Further motor unit studies in Duchenne muscular dystrophy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 40, 1147-1151.

McDonald, C.M., Abresch, R.T., Carter, G.T., Fowler, W.M., Jr, Johnson, E.R., Kilmer, D.D., Sigford, B.J., 1995. Profiles of neuromuscular diseases. Duchenne muscular dystrophy. *American journal of physical medicine & rehabilitation / Association of Academic Physiatrists* 74, S70-92.

McNair, P.J., Dombroski, E.W., Hewson, D.J., Stanley, S.N., 2001. Stretching at the ankle joint: viscoelastic responses to holds and continuous passive motion. *Medicine and science in sports and exercise* 33, 354-358.

McNair, P.J., Hewson, D.J., Dombroski, E., Stanley, S.N., 2002. Stiffness and passive peak force changes at the ankle joint: the effect of different joint angular velocities. *Clinical biomechanics* (Bristol, Avon) 17, 536-540.

Mendell, J.R., Shilling, C., Leslie, N.D., Flanigan, K.M., al-Dahhak, R., Gastier-Foster, J., Kneile, K., Dunn, D.M., Duval, B., Aoyagi, A., Hamil, C., Mahmoud, M., Roush, K., Bird, L., Rankin, C., Lilly, H., Street, N., Chandrasekar, R., Weiss, R.B., 2012. Evidence-based path to newborn screening for Duchenne muscular dystrophy. *Annals of neurology* 71, 304-313.

Merlini, L., Stagni, S.B., Marri, E., Granata, C., 1992. Epidemiology of neuromuscular disorders in the under-20 population in Bologna Province, Italy. *Neuromuscular disorders : NMD* 2, 197-200.

Moritani, T., Merletti, R., 2004. Basic physiology and biophysics of EMG signal generation. . In: Wiley (Ed.), *Electromyography Physiology Engineering and Noninvasive Applications*. New York., pp. 1–20.

Morizumi, H., Hizawa, K., Nunomura, S., Ii, K., 1984. Comparative study of alterations of skeletal muscle in Duchenne muscular dystrophy and polymyositis. *Acta pathologica japonica* 34, 1221-1242.

Mooseker, M.S., Morrow, J.S., 1991. *Ordering The Membrane Cytoskeleton Trilayer*. 2nd Ed. New Delhi.

Muraoka, T., Muramatsu, T., Fukunaga, T., Kanehisa, H., 2004. Influence of tendon slack on electromechanical delay in the human medial gastrocnemius in vivo. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985) 96, 540-544.

Muro, A., Nagata, A., 1985. The effects on electromechanical delay of muscle stretch of the human triceps surae. In: Kinetics, H. (Ed.), *Biomechanics IX-A*. , Champaign, pp. 86-90.

Nakayama, T., Kuru, S., Kawai, M., 2013. Analysis using histograms of muscle CT images in patients with Duchenne muscular dystrophy. *BMJ case reports* 2013.

Narici, M., Cerretelli, P., 1998. Changes in human muscle architecture in disuse-atrophy evaluated by ultrasound imaging. *Journal of gravitational physiology : a journal of the International Society for Gravitational Physiology* 5, P73-74.

Nightingale, K.R., Palmeri, M.L., Nightingale, R.W., Trahey, G.E., 2001. On the feasibility of remote palpation using acoustic radiation force. *The Journal of the Acoustical Society of America* 110, 625-634.

Nonaka, I., Takagi, A., Sugita, H., 1981. The significance of type 2C muscle fibers in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle & nerve* 4, 326-333.

Nordez, A., Casari, P., Cornu, C., 2008a. Effects of stretching velocity on passive resistance developed by the knee musculo-articular complex: contributions of frictional and viscoelastic behaviours. *European journal of applied physiology* 103, 243-250.

Nordez, A., Gallot, T., Catheline, S., Guével, A., Cornu, C., Hug, F., 2009. Electromechanical delay revisited using very high frame rate ultrasound. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985) 106, 1970-1975.

Nordez, A., Gennisson, J.L., Casari, P., Catheline, S., Cornu, C., 2008b. Characterization of muscle belly elastic properties during passive stretching using transient elastography. *Journal of biomechanics* 41, 2305-2311.

Nordez, A., Hug, F., 2010. Muscle shear elastic modulus measured using supersonic shear imaging is highly related to muscle activity level. *Journal of applied physiology* 108, 1389-1394.

Norman, A., Harper, P., 1989. A survey of manifesting carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy in Wales. *Clinical genetics* 36, 31-37.

Oexle, K., Zwirner, A., Freudenberg, K., Kohlschutter, A., Speer, A. 1997. Examination of telomere lengths in muscle tissue casts doubt on replicative aging as cause of progression in Duchenne muscular dystrophy. *Pediatric Research*. 42, 226-231.

Ohlendieck, K., Ervasti, J.M., Snook, J.B., Campbell, K.P., 1991. Dystrophin-glycoprotein complex is highly enriched in isolated skeletal muscle sarcolemma. *The Journal of cell biology* 112, 135-148.

Orizio, C., Esposito, F., Paganotti, I., Marino, L., Rossi, B., Veicsteinas, A., 1997. Electrically-elicited surface mechanomyogram in myotonic dystrophy. *Italian journal of neurological sciences* 18, 185-190.

Ottenheijm, C.A., Knottnerus, A.M., Buck, D., Luo, X., Greer, K., Hoying, A., Labeit, S., Granzier, H., 2009. Tuning passive mechanics through differential splicing of titin during skeletal muscle development. *Biophys J* 97, 2277-2286.

Palmeri, M.L., Nightingale, K.R., 2004. On the thermal effects associated with radiation force imaging of soft tissue. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 51, 551-565.

Pearson, C.M., Kar, N.C., 1979. Muscle breakdown and lysosomal activation (biochemistry). *Annals of the New York Academy of Sciences* 317, 465-477.

Perkins, K.J., Davies, K.E., 2002. The role of utrophin in the potential therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD* 12 Suppl 1, S78-89.

Petitjean, M., Maton, B., Fourment, A., 1998. Summation of elementary phonomyograms during isometric twitches in humans. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 77, 527-535.

Petrof, B.J., Shrager, J.B., Stedman, H.H., Kelly, A.M., Sweeney, H.L., 1993. Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90, 3710-3714.

Piotrkiewicz, M., Filipiuk, M., Hausmanowa-Petrusewicz, I., 1993. MU firing characteristics in human dystrophic muscle. *Acta neurobiologiae experimentalis* 53, 313-318.

Pulkovski, N., Schenk, P., Maffioletti, N.A., Mannion, A.F., 2008. Tissue Doppler imaging for detecting onset of muscle activity. *Muscle & nerve* 37, 638-649.

Qin, E.C., Juge, L., Lambert, S.A., Paradis, V., Sinkus, R., Bilston, L.E., 2014. In Vivo Anisotropic Mechanical Properties of Dystrophic Skeletal Muscles Measured by Anisotropic MR Elastographic Imaging: The mdx Mouse Model of Muscular Dystrophy. *Radiology*, 132661.

Raastad, T., Owe, S.G., Paulsen, G., Enns, D., Overgaard, K., Cramer, R., Kiil, S., Belcastro, A., Bergersen, L., Hallén, J., 2010. Changes in Calpain Activity, Muscle Structure, and Function after Eccentric Exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 42, 86-95.

Rack, P.M., 1966. The behaviour of a mammalian muscle during sinusoidal stretching. *The Journal of physiology* 183, 1-14.

Ramaswamy, K.S., Palmer, M.L., van der Meulen, J.H., Renoux, A., Kostrominova, T.Y., Michele, D.E., Faulkner, J.A., 2011. Lateral transmission of force is impaired in skeletal muscles of dystrophic mice and very old rats. *The Journal of physiology* 589, 1195-1208.

Rampichini, S., Ce, E., Limonta, E., Esposito, F., 2014. Effects of fatigue on the electromechanical delay components in gastrocnemius medialis muscle. *European journal of applied physiology* 114, 639-651.

Ray, P.N., Belfall, B., Duff, C., Logan, C., Kean, V., Thompson, M.W., Sylvester, J.E., Gorski, J.L., Schmickel, R.D., Worton, R.G., 1985. Cloning of the breakpoint of an X;21 translocation associated with Duchenne muscular dystrophy. *Nature* 318, 672-675.

Ringleb, S.I., Bensamoun, S.F., Chen, Q., Manduca, A., An, K.N., Ehman, R.L., 2007. Applications of magnetic resonance elastography to healthy and pathologic skeletal muscle. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 25, 301-309.

Rizzuto, E., Musarò, A., Catizone, A., Del Prete, Z., 2009. Measuring tendon properties in mdx mice: cell viability and viscoelastic characteristics. *Journal of biomechanics* 42, 2243-2248.

Ross, R., Leger, L., Guardo, R., De Guise, J., Pike, B.G., 1991. Adipose tissue volume measured by magnetic resonance imaging and computerized tomography in rats. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 70, 2164-2172.

Royer, D., Dieulesaint, E., 1989. Mesures optiques de déplacements d'amplitude 10-4 à 102 Angström. Application aux ondes élastiques. *Revue de physique appliquée*, pp. 833-846.

Royer, D., Dieulesaint, E., 1996. Ondes élastiques dans les solides. In: Masson, E. (Ed.).

Royer, D., Gennisson, J.L., Deffieux, T., Tanter, M., 2011. On the elasticity of transverse isotropic soft tissues (L). *The Journal of the Acoustical Society of America* 129, 2757-2760.

Sacco, A., Mourkioti, F., Tran, R., Choi, J., Llewellyn, M., Kraft, P., Shkreli, M., Delp, S., Pomerantz, J.H., Artandi, S.E., Blau, H.M., 2010. Short telomeres and stem cell exhaustion model Duchenne muscular dystrophy in mdx/mTR mice. *Cell* 143, 1059-1071.

Sarvazyan, A.P., Rudenko, O.V., Swanson, S.D., Fowlkes, J.B., Emelianov, S.Y., 1995. Biophysical bases of elasticity imaging. *Acoustical imaging* 21, 223-240.

Sasaki, K., Sasaki, T., Ishii, N., 2011. Acceleration and force reveal different mechanisms of electromechanical delay. *Medicine and science in sports and exercise* 43, 1200-1206.

Schmalbruch, H., 1984. Regenerated muscle fibers in Duchenne muscular dystrophy: a serial section study. *Neurology* 34, 60-65.

Schmalbruch, H., Hellhammer, U., 1976. The number of satellite cells in normal human muscle. *The Anatomical record* 185, 279-287.

Schouten, J.P., McElgunn, C.J., Waaijer, R., Zwijnenburg, D., Diepvens, F., Pals, G., 2002. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic acids research* 30, e57.

Schultz, E., 1989. Satellite cell behavior during skeletal muscle growth and regeneration. *Medicine and science in sports and exercise* 21, S181-186.

Scott, O.M., Vrbova, G., Hyde, S.A., Dubowitz, V., 1986. Responses of muscles of patients with Duchenne muscular dystrophy to chronic electrical stimulation. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 49, 1427-1434.

Servais, L., Deconinck, N., Moraux, A., Benali, M., Canal, A., Van Parys, F., Vereecke, W., Wittevrongel, S., Mayer, M., Desguerre, I., Maincent, K., Themar-Noel, C., Quijano-Roy, S., Serari, N., Voit, T., Hogrel, J.Y., 2013. Innovative methods to assess upper limb strength and function in non-ambulant Duchenne patients. *Neuromuscular disorders : NMD* 23, 139-148.

Shimizu, J., Matsumura, K., Kawai, M., Kunimoto, M., Nakano, I., 1991. [X-ray CT of Duchenne muscular dystrophy skeletal muscles--chronological study for five years]. *Rinsho shinkeigaku = Clinical neurology* 31, 953-959.

Shinohara, M., Sabra, K., Gennisson, J.L., Fink, M., Tanter, M., 2010. Real-time visualization of muscle stiffness distribution with ultrasound shear wave imaging during muscle contraction. *Muscle & nerve* 42, 438-441.

Smith, L.R., Barton, E.R., 2014. Collagen content does not alter the passive mechanical properties of fibrotic skeletal muscle in mdx mice. *American journal of physiology. Cell physiology* 306, C889-898.

Smith, R.A., Newcombe, R.G., Sibert, J.R., Harper, P.S., 1991. Assessment of locomotor function in young boys with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle & nerve* 14, 462-469.

Spencer, M.J., Mellgren, R.L., 2002. Overexpression of a calpastatin transgene in mdx muscle reduces dystrophic pathology. *Human molecular genetics* 11, 2645-2655.

Spurrs, R.W., Murphy, A.J., Watsford, M.L., 2003. The effect of plyometric training on distance running performance. *European journal of applied physiology* 89, 1-7.

Stuberg, W.A., Metcalf, W.K., 1988. Reliability of quantitative muscle testing in healthy children and in children with Duchenne muscular dystrophy using a hand-held dynamometer. *Physical therapy* 68, 977-982.

Tanter, M., Bercoff, J., Sandrin, L., Fink, M., 2002. Ultrafast compound imaging for 2-D motion vector estimation: application to transient elastography. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 49, 1363-1374.

- Tanter, M., Sinkus, R., Deffieux, T., Gennisson, J.L., Fink, M., 2007. L'élastographie par ultrasons ou résonance magnétique : de nouveaux outils de diagnostic en cancérologie *Médecine nucléaire* 31, 132-141.
- Tawil, R., McDermott, M.P., Mendell, J.R., Kissel, J., Griggs, R.C., 1994. Facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD): design of natural history study and results of baseline testing. FSH-DY Group. *Neurology* 44, 442-446.
- Thomas, G.D., 2013. Functional muscle ischemia in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Frontiers in physiology* 4, 381.
- Tidball, J.G., 1991. Force transmission across muscle cell membranes. *Journal of biomechanics* 24 Suppl 1, 43-52.
- Torr, G.R., 1984. The acoustic radiation force. *American Journal of Physics* 52, 402-408.
- Towbin, J.A., Hejtmancik, J.F., Brink, P., Gelb, B., Zhu, X.M., Chamberlain, J.S., McCabe, E.R., Swift, M., 1993. X-linked dilated cardiomyopathy. Molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation* 87, 1854-1865.
- Turner, P.R., Westwood, T., Regen, C.M., Steinhardt, R.A., 1988. Increased protein degradation results from elevated free calcium levels found in muscle from mdx mice. *Nature* 335, 735-738.
- Tyler, K.L., 2003. Origins and early descriptions of "Duchenne muscular dystrophy". *Muscle & nerve* 28, 402-422.
- Uchikawa, K., Liu, M., Hanayama, K., Tsuji, T., Fujiwara, T., Chino, N., 2004. Functional status and muscle strength in people with Duchenne muscular dystrophy living in the community. *Journal of rehabilitation medicine* 36, 124-129.
- Uffmann, K., Maderwald, S., Ajaj, W., Galban, C.G., Mateiescu, S., Quick, H.H., Ladd, M.E., 2004. In vivo elasticity measurements of extremity skeletal muscle with MR elastography. *NMR in biomedicine* 17, 181-190.
- Wagner, M.B., Vignos, P.J., Jr., Carozzi, C., 1989. Duchenne muscular dystrophy: a study of wrist and hand function. *Muscle & nerve* 12, 236-244.
- Wang, J.F., Forst, J., Schroder, S., Schroder, J.M., 1999. Correlation of muscle fiber type measurements with clinical and molecular genetic data in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD* 9, 150-158.
- Webster, C., Silberstein, L., Hays, A.P., Blau, H.M., 1988. Fast muscle fibers are preferentially affected in Duchenne muscular dystrophy. *Cell* 52, 503-513.
- Whitehead, N.P., Yeung, E.W., Allen, D.G., 2006. Muscle damage in mdx (dystrophic) mice: role of calcium and reactive oxygen species. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 33, 657-662.

Wild, J.J., Reid, J.M., 1952. Application of echo-ranging techniques to the determination of structure of biological tissues. *Science (New York, N.Y.)* 115, 226-230.

Willcocks, R.J., Arpan, I.A., Forbes, S.C., Lott, D.J., Senesac, C.R., Senesac, E., Deol, J., Triplett, W.T., Baligand, C., Daniels, M.J., Sweeney, H.L., Walter, G.A., Vandenborne, K., 2014. Longitudinal measurements of MRI-T2 in boys with Duchenne muscular dystrophy: effects of age and disease progression. *Neuromuscular disorders : NMD* 24, 393-401.

Witte, R.S., Kim, K., Martin, B.J., O'Donnell, M., 2006. Effect of fatigue on muscle elasticity in the human forearm using ultrasound strain imaging. *Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference* 1, 4490-4493.

Wokke, B.H., van den Bergen, J.C., Versluis, M.J., Niks, E.H., Milles, J., Webb, A.G., van Zwet, E.W., Aartsma-Rus, A., Verschuuren, J.J., Kan, H.E., Quantitative MRI and strength measurements in the assessment of muscle quality in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*.

Woods, C.E., Novo, D., DiFranco, M., Capote, J., Vergara, J.L., 2005. Propagation in the transverse tubular system and voltage dependence of calcium release in normal and mdx mouse muscle fibres. *The Journal of physiology* 568, 867-880.

Woods, C.E., Novo, D., DiFranco, M., Vergara, J.L., 2004. The action potential-evoked sarcoplasmic reticulum calcium release is impaired in mdx mouse muscle fibres. *The Journal of physiology* 557, 59-75.

Wren, T.A., Bluml, S., Tseng-Ong, L., Gilsanz, V., 2008. Three-point technique of fat quantification of muscle tissue as a marker of disease progression in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study. *AJR Am J Roentgenol* 190, W8-12.

Yavuz, S.U., Sendemir-Urkmez, A., Turker, K.S., 2010. Effect of gender, age, fatigue and contraction level on electromechanical delay. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 121, 1700-1706.

Zaidman, C.M., Connolly, A.M., Malkus, E.C., Florence, J.M., Pestronk, A., 2010. Quantitative ultrasound using backscatter analysis in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders : NMD* 20, 805-809.

Zajac, F.E., 1989. Muscle and tendon: properties, models, scaling, and application to biomechanics and motor control. *Critical reviews in biomedical engineering* 17, 359-411.

Zhou, S., Carey, M.F., Snow, R.J., Lawson, D.L., Morrison, W.E., 1998. Effects of muscle fatigue and temperature on electromechanical delay. *Electromyography and clinical neurophysiology* 38, 67-73.

Zhou, S., Lawson, D.L., Morrison, W.E., Fairweather, I., 1995. Electromechanical delay in isometric muscle contractions evoked by voluntary, reflex and electrical stimulation. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 70, 138-145.

RÉSUMÉ

Thèse de Doctorat

Lilian LACOURPAILLE

Caractérisation des propriétés contractiles et élastiques du muscle : Application à l'évaluation des patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne

Assessment of muscle contractile and elastic properties: Application to patients with Duchenne muscular dystrophy

Résumé

La production de force musculaire implique des processus électro-chimiques et mécaniques. Les études réalisées sur des modèles animaux indiquent que ces mécanismes peuvent être altérés par certaines pathologies neuromusculaires. Toutefois, peu d'études se sont attachées à les caractériser *in vivo* chez des patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD).

Ces travaux visent à évaluer les effets de la DMD sur les propriétés contractiles (délai électromécanique) et élastiques (raideur) du muscle. Dans une première partie nous avons développé la technique d'évaluation du délai électromécanique par échographie ultrarapide chez des sujets sains. Plus précisément, nous avons quantifié l'influence de la tension passive et de l'intensité de stimulation électrique musculaire sur les processus électro-chimiques et mécaniques impliqués dans le délai électromécanique. L'utilisation de cette technique a notamment permis de mieux comprendre les modalités de transmission de la force musculaire au cours d'une contraction musculaire électriquement évoquée. Dans la deuxième partie de ce travail nous nous sommes attachés à caractériser l'effet de la DMD sur les propriétés contractiles et élastiques du muscle. Nos résultats indiquent que le délai électromécanique du *biceps brachii* est augmenté chez les patients atteints de la DMD. À partir des mesures échographiques nous avons pu attribuer ce résultat à un allongement du délai entre le début de mouvement des fascicules musculaires et le début de production de force. Ce résultat montre une détérioration de la transmission de force musculaire, pouvant contribuer à la perte de force observée chez les patients. Enfin, nous avons mis en évidence une augmentation « généralisée » de la raideur musculaire chez les patients atteints de la DMD (i.e., 5 des 6 muscles testés). Cette augmentation de raideur était corrélée à l'âge du patient (i.e., stade de la pathologie) uniquement pour le *gastrocnemius medialis*.

Ces travaux expérimentaux apportent de nouvelles informations sur les mécanismes participant à la réduction des capacités de production et de mobilité des patients atteints de la DMD. Des études longitudinales permettront de déterminer si ces techniques pourraient bénéficier au suivi des patients et plus particulièrement au cours des essais cliniques.

Mots clés

Myopathie - délai électromécanique - échographie ultrarapide - élastographie - raideur - force

Abstract

Muscle force production involves electro-chemical and mechanical processes. Animal studies showed that some of these processes are altered by neuromuscular pathologies. Only a few studies have characterized such processes *in vivo* patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD).

This work aim to assess the effect of DMD on both contractile (electromechanical delay) and elastic properties (stiffness) of muscle. The first part of this work focused on the development of techniques to assess the electromechanical delay using ultrafast ultrasound in healthy participants. More precisely, we quantify the influence of passive tension and electrical stimulus intensity on both electro-chemical and mechanical processes involved in electromechanical delay. This technique provides especially a better understanding of the mechanisms involved in muscle force transmission during electrically evoked muscle contraction. During the second part of this work we characterized the effect of DMD on both muscle contractile and elastic properties. Our results showed that *biceps brachii* electromechanical delay is increased in patients with DMD. Using ultrafast ultrasound we imputed this result to a lengthened of the delay between the onset of muscle fascicles motion and the onset of force production. It indicated that the muscle force transmission is altered and it contributes to the decrease in muscle force of DMD patients. Finally, we found a "widespread" increase of muscle stiffness in patients with DMD (five out of the six tested muscles). This increase was positively correlated to the age of the patients (i.e., stage of the disease) only for the *gastrocnemius medialis*.

This series of studies provides novel insights into the mechanisms contributing to the decrease in force production and mobility in DMD patients. Further experiments are necessary to determine the sensitivity of these methods to monitor patients, especially during clinical trials.

Key Words

Myopathy - electromechanical delay - ultrafast ultrasound - elastography - stiffness - force