

Université Paris Descartes

Ecole doctorale SSMMH n°566 :

Sciences du Sport, de la Motricité et du Mouvement Humain

Laboratoire Sport, Expertise et Performance - EA 7370

OPTIMISATION DES APPORTS PROTÉIQUES EN RECUPÉRATION DE SÉANCES D'ENTRAÎNEMENT EN MUSCULATION

Par Marina FABRE

Thèse de doctorat en Sciences et Technique des Activités Physiques et Sportives

Dirigée par Xavier BIGARD

Présentée et soutenue publiquement le 19 décembre 2017

Devant un jury composé de :

Président du jury

Laurent BOSQUET

Professeur des Universités

UFR STAPS Poitiers

Rapporteurs

Marc FRANCAUX

Professeur des Universités

Université Catholique Louvain

Stéphane WALRAND

Directeur de Recherche

INRA - Clermont-Ferrand 1

Examineurs

Yann LE MEUR

PhD

AS Monaco

Jacqueline BRASY

Pharmacien

Lactalis R&D - Nutrition

Xavier BIGARD

Professeur agrégé

INSEP - AFLD

*« Vis comme si tu devais mourir demain,
apprends comme si tu devais vivre toujours »*

A mon père, le Docteur Jean-Paul Fabre.

A mes grands-parents, les Docteurs Blue & Tim Tewson.

A mon oncle, le Docteur Noel Olsen.

*« Dans la vie rien n'est à craindre,
tout est à comprendre »*

REMERCIEMENTS

C'est sans doute la première page que vous lirez, et la dernière que j'écris. Enfin j'y suis, le moment tant attendu des remerciements est là. Cet instant marque la fin de ce travail intense - de trois années - et surtout, de ces trois derniers mois consacrés à l'écriture de ce manuscrit. C'est donc avec joie et émotion que je débute ces quelques lignes de remerciements. Seule occasion du manuscrit où l'on peut sortir du cadre scientifique, exprimer ses sentiments, relater ses souvenirs, afin d'adresser toute sa gratitude à ceux qui, de près ou de loin ont contribué à rendre passionnant ce métier de chercheur, de nutritionniste, et à mener ce travail doctoral à son terme.

La thèse à l'INSEP c'est avant tout, un travail d'équipe

« Seul on va plus vite, ensemble on va plus loin »

Mes premiers remerciements s'adressent à **Xavier Bigard**,
Professeur agrégé du Val de Grâce et Chercheur associé à l'INSEP,
Directeur de thèse, sans qui celle-ci n'aurait pas vu le jour et n'aurait sans doute pu aboutir.
Je lui suis particulièrement reconnaissante de m'avoir accordé sa confiance et son attention. Je le remercie également pour son soutien, pour sa pédagogie et pour son humilité.

Je tiens également à exprimer toute ma gratitude à **Eve Tiollier**,
Chercheur et Responsable de la Mission Nutrition à l'INSEP.
Merci pour sa bienveillance, son esprit d'équipe, son sérieux et son soutien sans faille.
Eve a toujours été présente de mon arrivée à l'INSEP, en stage de Master, jusqu'à l'aboutissement de ce manuscrit. Merci pour son aide lors de « manip » insolites (dosages à 1h du matin, frayeurs nocturnes dans le labo, Guadeloupe, ...), pour son soutien lors de présentations orales toujours pleines de surprises (Nancy, Clermont-Ferrand, ECSS, ...) et pour tout ce travail partagé dans la confiance et la bonne humeur. C'est un immense plaisir de travailler avec une passionnée de nutrition comme elle.

A **Christophe Hausswirth** qui m'a donné l'opportunité d'effectuer ce projet, remerciements sincères.

A **Gaël Guilhem** et **Jean-François Robin**,
Directeur et co-Directeur du laboratoire Sport Expertise et Performance, qui m'ont permis de mener à bien cette thèse.

A **Jacqueline Brasy** et **Pascale Leruyet**,
Pharmacien et Responsable de Lactalis R&D Nutrition.
Pour leur soutien, encouragements et collaboration dans le travail, remerciements sincères.

Merci aux membres du jury,
Monsieur **Laurent Bosquet**, Professeur à l'UFR STAPS Poitiers,
Monsieur **Marc Francaux**, Professeur à l'Université Catholique Louvain,
Monsieur **Stéphane Walrand**, Directeur de Recherche INRA, Université Clermont-Ferrand 1,
Monsieur **Yann Le Meur**, Conseiller Scientifique à l'AS Monaco,
Madame **Jacqueline Brasy**, Pharmacien, Lactalis R&D Nutrition.
Qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail, et dont l'expertise et les conseils avisés me seront précieux.

Merci à la **Team FFR, Julien P., Julien R., Bertrand & Cédric**, pour ce travail partagé dans la convivialité, l'esprit d'équipe, le partage des savoir-faire et connaissances qui rend chaque session de travail constructive et passionnante. Mention particulière pour Bertrand, Cédric, Tanguy et Eve, pour cette « manip » de folie avec des mesures de 7h à 1h du matin... C'est dans les moments difficiles que l'on apprend à connaître les gens, et bien je dois avouer que je n'ai pas vu de faille. Solidaires du début à la fin dans ce travail ! Merci, pour ce bon souvenir.

Un immense merci à **Rachel Borne**, pour ses conseils précieux, ses relectures pointilleuses et surtout pour tous ces moments partagés à refaire le monde, à rire, parfois pleurer, crier, échanger, qui font partie de la thèse, de la vie !

Je suis extrêmement reconnaissante à ma petite hand-balleuse, **Caroline Giroux** et à notre génie, **Antoine Couturier** pour leur présence, leurs conseils et leur aide précieuse dans les bons comme les moins bons moments.

Des remerciements chaleureux à **Simon Avrillon & Mathilde Poignard** pour leur aide, qui donne du « baume au cœur » dans ces moments de travail intense.

Merci à **Lilian Lacourpaille** pour avoir formée une « Nut » au Contrex.

Merci à **Alexandre Durguerian** qui m'a initiée à la musculation, sans qui je n'aurais pas pu parer, conseiller et réaliser correctement le suivi de l'entraînement des participants à mes études.

Merci à **Anne Duport & Myriam Karagulyan**, manipulatrices radio de l'INSEP, pour avoir fait passer les 184 DEXA et 88 IRM.

Merci aux **77 participants** de ces deux études de thèse, qui sont allés au bout de l'entraînement avec sérieux et motivation.

Merci aux **Athlètes, Entraîneurs, Kinés et Médecins des pôles France de l'INSEP**, qui m'ont fait découvrir le sport de haut niveau, qui m'ont fait confiance et m'ont toujours bien accueillie lors des interventions nutritionnelles que ce soit à l'entraînement, en stage ou en compétition.

Merci aux **membres et anciens membres du laboratoire** qui m'ont soutenue pendant ces trois années et qui m'ont appris tant sur le plan humain que professionnel.

Merci à **Nathalie Boinard & Yann Le Bras**, avec qui j'ai beaucoup appris sur la communication auprès du Grand Public. Merci pour ces moments de travail hors du commun, passés dans la convivialité.

Enfin, merci à **Catherine Menuet & Audrey Andel**, pour m'avoir montré la voie et initiée à la Nutrition.

La thèse à l'INSEP c'est bien sûr, du sport

« Un esprit sain dans un corps sain »

Je tiens à remercier **l'équipe de tennis « des bras cassés » de l'INSEP**, Jean-Mi, Serge, Zizou, Jean-Marc, Gaël, Adrien, Alain, Guy, pour avoir accepté une fille dans leur équipe. Je n'oublierai pas tous ces bons moments passés sur le terrain. Vous avez contribué à mon bien-être pendant ces trois années de thèse.

Merci également à mon **Coach Bruno Cornoy**, qui m'a forgé le mental sur le terrain, bien utile pour arriver au bout de cette thèse. Comme quoi il avait raison « c'est souvent la tête qui finit par gagner ».

La thèse à l'INSEP c'est aussi, savoir « oublier » le travail...

Les premières lignes de ce paragraphe sont dédiées aux **Ronces, Antoine, Paul, Pitch, Rémy, Beber, Martin, Maxime** et à **Clémence, Amande, Mok, Pepette, Jaja, Tinou, Rachou**, pour leur capacité à me faire lâcher prise si rapidement, merci pour tous ces bons moments !

Merci également à la « **team des fucks** », pour ces soirées qui commencent toujours par « On va boire une petite tasse ? », mais pour lesquelles on ne sait jamais comment ça va se terminer.....

...sans jamais oublier d'où l'on vient.

« Le bonheur n'est réel que partagé »

Enfin, je voudrais exprimer toute ma gratitude envers **ma famille, Mum, Dad, mon Papy Guy, Nicky, Justin, Jess, Flora, Will, Kassie, Timothy, Tom, Arnaud, Nicolas, Maxime, Agnès, Gérard Gauthier (alias GG) & Fanny**. Merci pour votre soutien, votre joie de vivre, votre bienveillance et votre amour.

Un merci tout particulier à mon « confident », **Maxime** ;
Et ma « coach mentale », **ma mère**.

L'ensemble des travaux de thèse ont été menés au laboratoire Sport, Expertise et Performance, EA 7370, de l'Institut National du Sport de l'Expertise et de la Performance (INSEP), de Janvier 2015 à Décembre 2017. Ils ont pu être réalisés grâce à la Convention Industrielle de Formation par la Recherche établie entre l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie et la société Lactalis R&D.

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Publications dans des revues scientifiques internationales

Fabre M., Hausswirth C., Tiollier E., Molle O., Louis J., Durguerian A., Neveux N., Bigard X. Effects of post-exercise protein intake on muscle mass and strength during resistance training: is there an optimal ratio between fast and slow proteins? *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2017, 19:1-23.

Fabre M., Tiollier E., Molle O., Bigard X. Effects and optimal timing of casein intake on muscle mass and strength during resistance training. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, under review.

Fabre M. and Mathieu B., Tiollier E., Robineau J., Leduc C., Piscione J., Bigard X. Effects of whey protein and carbohydrate on recovery and performance during a rugby tournament: a double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over study. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sport*, in preparation.

Communications dans des congrès internationaux

Fabre M., Hausswirth C., Tiollier E., Molle O., Louis J., Durguerian A., Neveux N., Bigard X.. Effects of post-exercise protein intake on muscle mass and strength during resistance training: is there an optimal ratio between fast and slow proteins? 16ème congrès de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives (ACAPS), 2015, Nantes.

Fabre M., Tiollier E., Molle O., Bigard X. Effects and optimal timing of casein intake on muscle mass and strength during resistance training. 22nd European College of Sport Science (ECSS), 2017, Rhur, Germany. Session Nutrition Awards.

Ce travail a valu la 3^{ème} place lors des « Nutrition Awards » à l'ECSS

Fabre M., Tiollier E., Molle O., Bigard X. Effects and optimal timing of casein intake on muscle mass and strength during resistance training. Journées Francophones de la Nutrition (JFN), 2017, Nantes.

Communications affichées

Fabre M., Hausswirth C., Tiollier E., Molle O., Louis J., Durguerian A., Neveux N., Bigard X.. Effects of post-exercise protein intake on muscle mass and strength during resistance training: is there an optimal ratio between fast and slow proteins? *Journées Lactalis Recherche et Développement*. Juin 2016.

Fabre M., Tiollier E., Molle O., Bigard X. Effects of casein intake on muscle mass and strength during resistance training. *Journées Lactalis Recherche et Développement*. Juin 2017.

OPTIMISATION DES APPORTS PROTÉIQUES EN RÉCUPÉRATION DE SÉANCES D'ENTRAÎNEMENT EN MUSCULATION

De nos jours, l'entraînement en musculation occupe une part importante dans la programmation d'entraînement des sportifs, car il permet d'optimiser deux paramètres essentiels à la performance, la force et la puissance. Les stratégies nutritionnelles qui accompagnent les séances de musculation sont susceptibles d'influencer les réponses à l'entraînement. Parmi ces stratégies, celle qui a surtout retenu l'attention du monde scientifique concerne les caractéristiques des apports protéiques, et notamment les aspects de quantité, de qualité et des moments d'apports optimaux. Alors que la grande majorité des travaux ont été conduits dans le cadre d'un exercice unique, ce travail de thèse se propose d'évaluer l'intérêt d'un apport protéique en récupération d'exercices programmés dans le cadre d'un entraînement en musculation de plusieurs semaines.

Il s'agit de 1) préciser l'impact du rapport entre les protéines lentes (caséines) et les protéines rapides (lactosérum) du lait - présentes dans une boisson protéique de récupération - sur les adaptations musculaires à un entraînement en musculation (masse musculaire et force) et, 2) vérifier l'intérêt et le moment optimal d'un apport en protéines lentes, après la séance de musculation, sur les réponses musculaires à l'entraînement.

Les résultats de la première étude ont montré une augmentation significative de la concentration plasmatique en leucine lorsque la proportion de protéines rapides est supérieure ou égale à la proportion de protéines lentes, par rapport à la situation inverse (plus de caséine que de lactosérum). Mais, ceci ne se traduit pas par des gains hypertrophiques supérieurs. La seconde étude, 1) confirme l'intérêt de l'ingestion de protéines rapides après chaque séance pour améliorer le gain de masse musculaire en réponse à l'entraînement en musculation, et 2) suggère l'intérêt d'un apport de caséine 3h après la fin de chaque séance d'entraînement, afin de maximiser les gains de force pendant l'entraînement en musculation.

Ces résultats permettent de préciser les recommandations d'apports en protéines en phase de récupération de séances de musculation, tant au plan de la qualité des apports azotés (Etude 1), de leur quantité (Etudes 1 et 2), que des moments d'apports (Etude 2).

Mots clés : protéines de lactosérum ; caséine ; masse musculaire ; force ; entraînement en musculation.

OPTIMISATION OF POST-EXERCISE PROTEIN INTAKE DURING RESISTANCE TRAINING

Nowadays, resistance training plays an important part in the training programs of sportsmen, because it can optimize two essential parameters of physical performance: strength and power. Nutritional strategies following exercise can maximise the muscle responses from resistance training. Quality, quantity and timing of protein intake have particularly engaged the attention of scientific studies. While the majority of relevant research has investigated the intake of protein after a single bout of resistance exercise, this particular research project aims to investigate the effects of post-exercise protein intake during several weeks of resistance training.

The objectives of this project are 1) to identify the optimal ratio between slow proteins (casein) and fast proteins (whey) of milk, present in a recovery riched-protein drink, on the muscle adaptations from resistance training (muscle mass and strength) and, 2) to investigate the muscle responses to slow protein intake a few hours after resistance training exercise.

Results from the first study show that there is no resulting gain in muscle mass when the ratio of fast protein is equal to or higher than that of slow protein, despite a resulting increase in plasma leucine. The second study 1) confirms that ingestion of fast protein after each resistance training session improves muscle mass and strength gains, and 2) suggests that intake of casein 3 hours after the end of each training session can maximize the gain of strength during resistance training.

These results allow specific recommendations to be formulated for protein intake during the recovery period after resistance training, both in planning the quality (Study 1), quantity (Studies 1 and 2) and timing (Study 2) of protein intake during resistance training programs.

Kew words: whey; casein; muscle mass; strength; resistance training.

LISTE DES PRINCIPALES ABRÉVIATIONS

AAE : Acides Aminés Essentiels

AAT : Acides Aminés Totaux

ADP : Adénosine Diphosphate

AICAR : 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside

Akt ou PKB : Protein Kinase B

AMPK : 5'-AMP-activated Protein Kinase

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail

AR : Récepteurs à Androgènes

ARNm : ARN messager

Atg13 : Autophagie gene 13

ATP : Adénosine Triphosphate

BCAA : Acides Aminés Branchés

BNIP-3 : Adenovirus E1B 19kDa-interacting Protein 3

Ca²⁺ : ion Calcium

Cr : Créatine

CSA : Cross Sectional Area, Surface de section transversale

DIAAS : Digestible Indispensable Amino Acid Score

4E-BP1 : Eukaryotic initiation factor 4E Binding Protein

eIF4E : Eukaryotic translation Initiation Factor 4E

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinases

EROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

F_{max} : Force maximale

GAP : Guanosine Activating Protein

GATOR : GTPase-activating protein

GH : Hormone de Croissance

GTP : Guanosine Triphosphate Protein

IGF-1 : Insuline-like Growth Factor-1

K⁺ : ion Potassium

LC3 : microtubule-associated protein 1 Light Chain 3

l_o : longueur optimale

MAP4K3 : Mitogen-Activating Protein Kinase-3

Mg²⁺ : ion Magnésium

miRNA : microARN

MNK1 : MAP kinase-interacting Kinase 1

mTOR : mammalian target of rapamycin

MURF1 : MUscle Ring Finger

Na⁺ : ion Sodium

O₂ : Oxygène

PA : Potentiel d'Action

PA : Phosphatidic Acid

PCr : Phosphocréatine

PCSA : Surface de section tansversale physiologique

PDCAAS : Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score

Pi : Phosphate inorganique

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase

PLD : Phospholipase D

Rag GTPase : Small G Protein Rag

REDD : REgulated in Develepment and DNA damage

Rheb : Ras homologue enriched in brain

RM : Répétition Maximale

RMN : Résonnance Magnétique Nucléaire

rpS6 : ribosomale protein S6

RS : Réticulum Sarcoplasmique

RyR : Récepteur à la Ryanodine

Smad2/3 : Small mothers against decapentaplegic 2/3

TGF- β : Facteur de croissance transformant

TSC : Tuberous Sclerosis Complex

ULK1 : UNC-51 Like Kinase-1

UM : Unité Motrice

UPS : Ubiquitin-Proteasome System

Vps34 : Vacuolar protein sorting 34

Vmax : Vitesse maximale

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
ETAT DES CONNAISSANCES	4
Chapitre I - Les déterminants musculaires de la performance	4
1. Rappels sur les mécanismes de la contraction musculaire	4
2. Les déterminants de la force musculaire maximale	7
2.1. Le volume musculaire	7
2.2. L'architecture musculaire	8
2.3. La surface de section transversale physiologique	10
3. Les déterminants de la puissance musculaire maximale	11
3.1. La définition de la puissance : relation force-vitesse	11
3.2. La typologie des fibres musculaires	12
4. Les déterminants de la résistance à la fatigue musculaire	16
4.1. L'excitabilité de la membrane de la fibre musculaire	17
4.2. Les changements métaboliques	18
4.3. Effets des réserves énergétiques sur la fatigue musculaire	21
4.4. Effets des espèces réactives de l'oxygène sur la fatigue musculaire	22
5. Les réponses du muscle à un entraînement en musculation	23
5.1 Effets de l'entraînement en musculation sur la force	23
5.2. Effets de l'entraînement en musculation sur la puissance	25
5.3. Effets de l'entraînement en musculation sur la résistance à la fatigue	26
5.4. Formes d'entraînement et natures des réponses musculaires	27
5.5. Hétérogénéité des réponses à l'entraînement	30
Chapitre II – Modulation de la masse musculaire	33
1. Notion de balance azotée : équilibre entre les synthèses et les dégradations des protéines	33
1.1. Rôles des protéines et des acides aminés dans l'organisme	33
1.2. Le métabolisme des protéines musculaires	34
1.3. Equilibre synthèses/dégradations des protéines et régulation de la masse musculaire	36
2. Activité physique et contrôle de la masse musculaire	37
2.1. Réponses du métabolisme des protéines musculaires à un exercice unique de musculation	37
2.2. Réponses du métabolisme des protéines musculaires à un entraînement en musculation	39
2.3. Relations entre l'hétérogénéité des réponses de la masse musculaire et l'équilibre synthèses/dégradations	42
3. Les déterminants moléculaires de la modulation de la masse musculaire : une approche cellulaire	45
3.1. Le contrôle positif des synthèses protéiques	45
3.2. Le contrôle négatif des synthèses protéiques	51
3.3. Le contrôle de la protéolyse musculaire	54
4. Les déterminants hormonaux de la modulation de la masse musculaire : une approche systémique	58
4.1. Hypertrophie <i>via</i> la signalisation d'IGF-1	59
4.2. Hypertrophie <i>via</i> la signalisation de la GH	60
4.3. Hypertrophie <i>via</i> la signalisation de la testostérone	61
Chapitre III – Rôle de l'apport protéique	64
1. Intérêts des apports en protéines sur l'anabolisme musculaire	64
1.1. Les recommandations nutritionnelles en protéines	64

1.2. Effets synergiques de l'exercice et de l'apport en protéines sur l'anabolisme et l'hypertrophie musculaire.....	65
2. Optimisation de l'apport en protéines à la suite d'un exercice unique de musculation.....	67
2.1. Type de protéines à privilégier à la suite d'un exercice de musculation.....	67
2.2. Quantité de protéines à privilégier à la suite d'un exercice unique de musculation	73
2.3. Moments d'apports de protéines à privilégier à l'issue d'un exercice unique de musculation	77
2.4. Pertinence de l'association des protéines avec d'autres macronutriments	80
2.5. Synthèse des connaissances et applications pratiques.....	84
3. Optimisation de l'apport en protéines dans le cadre d'un entraînement en musculation	85
3.1. Type de protéines à privilégier dans le cadre d'un entraînement en musculation.....	86
3.2. Quantité de protéines à privilégier dans le cadre d'un entraînement en musculation	88
3.3. Moments d'apports à privilégier dans le cadre d'un entraînement en musculation	90
3.4. Pertinence de l'association de protéines avec d'autres macronutriments dans le cadre d'un entraînement en musculation	93
3.5. Synthèse des connaissances et applications pratiques.....	94
OBJECTIFS DU TRAVAIL	96
CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE	98
MANUSCRIT 1.....	98
Contexte et objectif de l'étude.....	98
Article - Effects of post-exercise protein intake on muscle mass and strength during resistance training: is there an optimal ratio between fast and slow proteins ?	100
Conclusions et applications pratiques de l'étude.....	117
MANUSCRIT 2.....	118
Contexte et objectif de l'étude.....	118
Article - Effects and optimal timing of casein intake on muscle mass and strength during resistance training.....	119
Conclusions et applications pratiques de l'étude.....	140
DISCUSSION GÉNÉRALE	142
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	162
ANNEXES.....	175
POSTER 1.....	176
POSTER 2.....	177

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La masse musculaire occupe une part importante dans la composition du corps humain. En effet, sous ses différentes formes, le tissu musculaire constitue approximativement 47% de notre masse corporelle, soit presque la moitié de celle-ci. Le tissu musculaire est composé de trois types de cellules : les cellules musculaires lisses, les cellules musculaires striées cardiaque (ou cardiomyocytes) et les cellules musculaires striées squelettiques. Sous l'influence du système nerveux autonome (systèmes ortho- et parasympathiques) les cardiomyocytes et les cellules musculaires lisses des parois vasculaires (mais présentes aussi dans le tube digestif, l'appareil respiratoire, les voies urinaires et génitales) se contractent selon un mode non-volontaire pour, respectivement, propulser le sang et contrôler la distribution des liquides et substances dans l'organisme. À l'inverse, les cellules musculaires striées squelettiques - qui seront au centre des recherches rapportées dans ce manuscrit - ont un mode de contraction volontaire, résultant d'un acte consenti, intégré le plus souvent dans un programme moteur. Ces cellules musculaires permettent, entre autres, le maintien de la posture, la stabilisation des articulations et la réalisation de mouvements plus ou moins complexes. Ils sont donc un des acteurs majeurs de la performance sportive.

La performance sportive est liée à de multiples facteurs qui impliquent des éléments pré-déterminés (innés) ou acquis, de nature endogène ou liés à l'environnement (Figure 1). Parmi les facteurs physiologiques, le muscle est un des éléments déterminants de la performance sportive. Son implication dans la performance sportive peut être déterminée par une grandeur quantitative (volume du muscle et masse musculaire), qui se traduit par le nombre et la taille des fibres musculaires, mais également par une grandeur qualitative (type des fibres musculaires, leurs caractéristiques contractiles et métaboliques). Il convient aussi de prendre en considération les caractéristiques de l'innervation des fibres musculaires (notion d'unités motrices), ainsi que la capacité du système nerveux central (par le motoneurone) à activer les fibres musculaires de façon synchrone.

Le tissu musculaire est modulable et s'adapte en fonction des stimuli exogènes (exercice et nutrition). L'exercice avec charge peut impacter certains mécanismes moléculaires jouant un rôle dans la modulation de la masse musculaire. La nutrition et particulièrement les apports en protéines, associés à cet exercice semblent majorer les adaptations musculaires à l'entraînement (Cermak et al. 2012). **Le cœur de notre travail repose sur le rôle de l'apport en protéines dans le contrôle de la masse musculaire, chez les sujets régulièrement entraînés.**

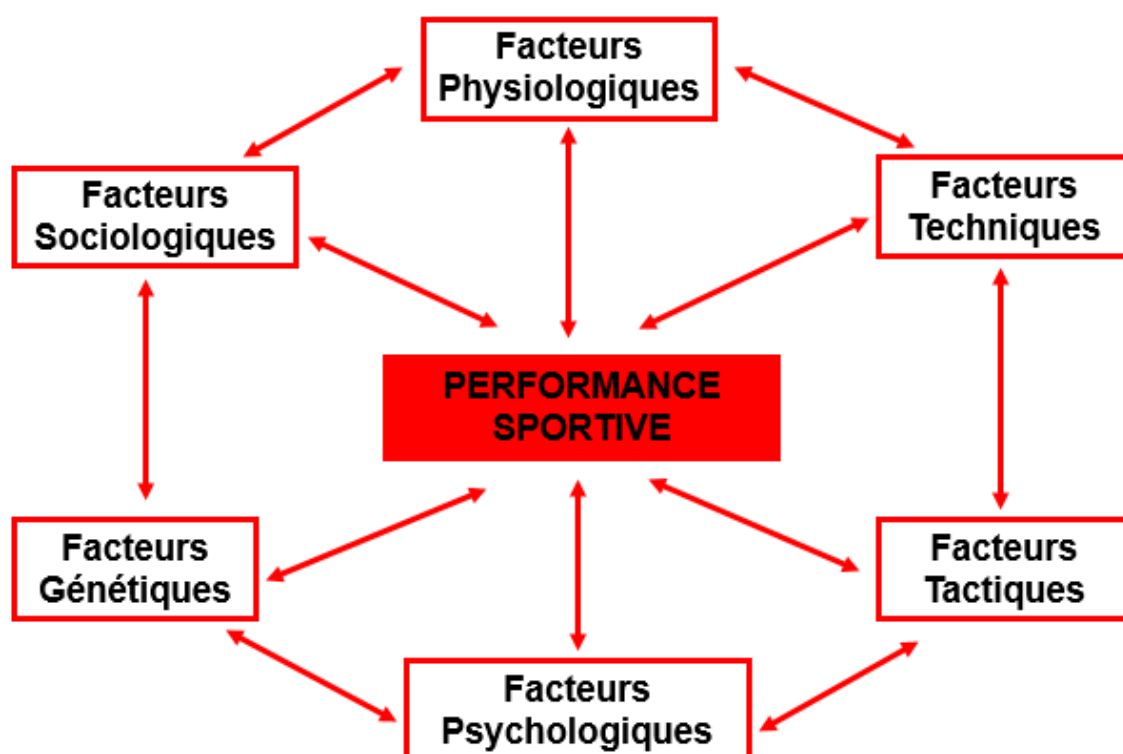


Figure 1. *Les facteurs déterminants de la performance sportive.*

ETAT DES CONNAISSANCES

ETAT DES CONNAISSANCES

Le rappel des connaissances sera limité aux déterminants de la masse musculaire chez le jeune adulte sportif régulièrement entraîné. Après un bref rappel des mécanismes de la contraction musculaire, nous évoquerons quelles caractéristiques fonctionnelles du muscle influent sur les performances sportives (force maximale, puissance maximale et endurance de force) ; puis nous développerons les mécanismes physiologiques impliqués dans la modulation de la masse musculaire ; et enfin, nous préciserons le rôle joué par les apports protéiques sur la modulation de la masse musculaire.

Chapitre I - Les déterminants musculaires de la performance

1. Rappels sur les mécanismes de la contraction musculaire

La contraction musculaire est un phénomène complexe qui résulte de l'interaction de multiples protéines de régulation (pompes ioniques, canaux calciques, etc.), se traduisant par le déplacement de filaments du cytosquelette (actine et myosine) les uns sur les autres (protéines de contraction). Avant de décrire les mécanismes d'une contraction musculaire, intéressons-nous à la structure et à la micro-anatomie du muscle.

Structure du muscle

Le muscle est constitué d'une multitude de cellules appelées fibres musculaires. Une fibre musculaire est une cellule multinucléée (comportant plusieurs centaines de noyaux). Elle est principalement constituée d'ensembles de myofibrilles de nature protéique. Les myofibrilles, elles-mêmes, peuvent être décomposées en petites unités contractiles appelées sarcomères. Chaque sarcomère est constitué de filaments épais de myosine et de filaments fins d'actine. C'est le glissement des filaments fins par rapport aux filaments épais qui entraîne le raccourcissement du sarcomère et donc, la contraction du muscle. Le glissement des deux filaments est dû en partie aux propriétés de la myosine. En effet, les têtes de la myosine se fixent sur un filament d'actine. Dans ce cas, les filaments de la myosine se déforment de façon synchrone et font glisser les filaments d'actine. La fixation des têtes de myosine sur les filaments d'actine est possible grâce à la formation de ponts d'union entre les têtes de myosine et l'actine. Les ponts d'union peuvent s'établir uniquement en présence d'ions calcium (Ca^{2+}) à l'intérieur de la cellule.

Rôle du Ca^{2+} dans la contraction musculaire

Le premier élément indispensable à la contraction musculaire est la libération rapide d'ions Ca^{2+} à l'intérieur de la cellule, à partir du réticulum sarcoplasmique (RS). Cette libération massive de Ca^{2+} fait suite à la stimulation de la fibre musculaire par une terminaison de motoneurone (filet terminal de neurone moteur destiné à chaque fibre musculaire du muscle squelettique). Cette stimulation produit un potentiel d'action musculaire (PA) qui parcourt le sarcolemme et se déplace le long des tubules transverses (Figure 2). Ce PA est le signal déclencheur de la libération du calcium par le réticulum sarcoplasmique au travers du récepteur à la ryanodine (RyR1). Le réticulum sarcoplasmique se situe autour de chaque myofibrille et constitue un réel réservoir de Ca^{2+} . Le calcium intracellulaire, se lie à la sous-unité C de la troponine, permettant ensuite la formation des ponts d'union. Ceci entraîne la fixation de la tête de myosine sur des sites spécifiques de l'actine. Les alternances de liaison entre l'actine et la myosine entraînent le déplacement des filaments fins et épais, et induit la contraction musculaire.

Le calcium fait donc le lien entre l'excitation électrique de la cellule musculaire et la contraction musculaire (Figures 2 et 3).

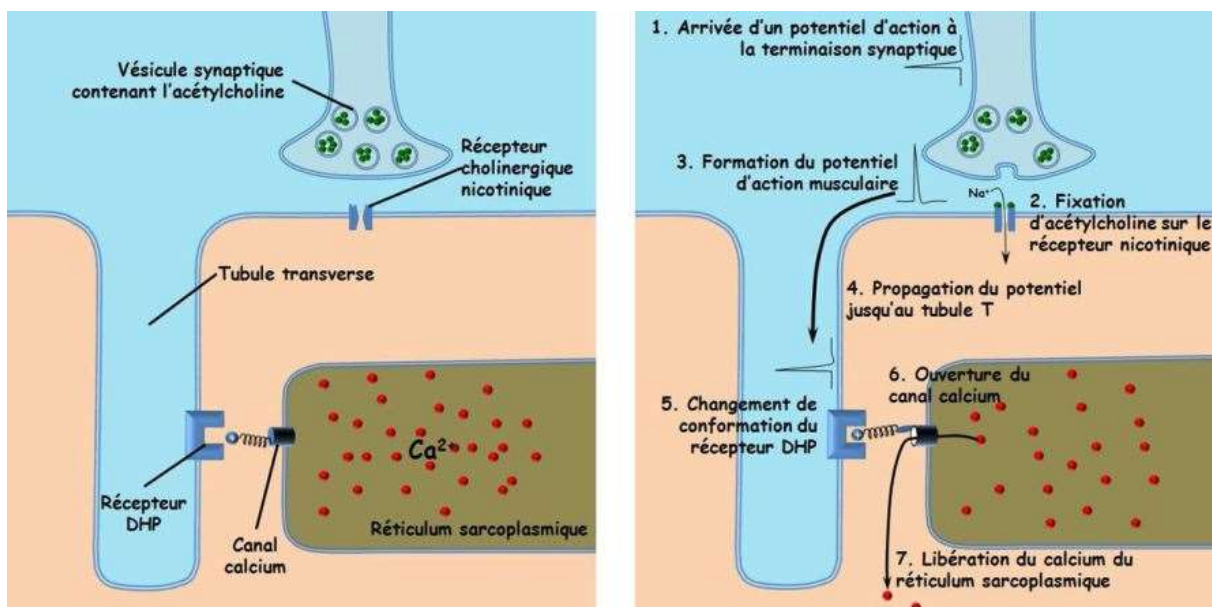


Figure 2. Représentation schématique des étapes menant à la libération du calcium par le réticulum sarcoplasmique.

Rôle de l'ATP dans la contraction musculaire

Le deuxième événement biochimique indispensable à la contraction musculaire est l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP). En effet, la tête de myosine a besoin d'énergie pour pouvoir se libérer des filaments d'actine. L'ATP-ase présente sur la tête de la myosine, catalyse l'hydrolyse de l'ATP et la production de l'énergie nécessaire à la libération de la tête de myosine aux filaments d'actine. Le complexe actine/myosine libère ensuite les produits de l'hydrolyse de l'ATP (ADP+Pi) qui, de manière cyclique, sont régénérés en ATP. La présence d'ATP dans la myofibrille, permet le relâchement puis le détachement des têtes de myosine. La tête de myosine hydrolyse à nouveau l'ATP en ADP et en Phosphate inorganique (Pi). La tête de myosine est donc sous tension (riche en énergie), et de nouveau, la myosine énergisée se lie aux myofilaments d'actine, forme des ponts d'union et ainsi, entretient la continuité de la contraction musculaire. Ce cycle se poursuit tant que des molécules d'ATP sont disponibles et que les ions Ca^{2+} se lient à la troponine.

Ainsi, lors de la contraction musculaire, de l'énergie chimique sous forme d'ATP est convertie en énergie mécanique au niveau de chaque sarcomère. L'actine et la myosine sont les acteurs moléculaires de la transformation de l'énergie chimique en énergie mécanique.

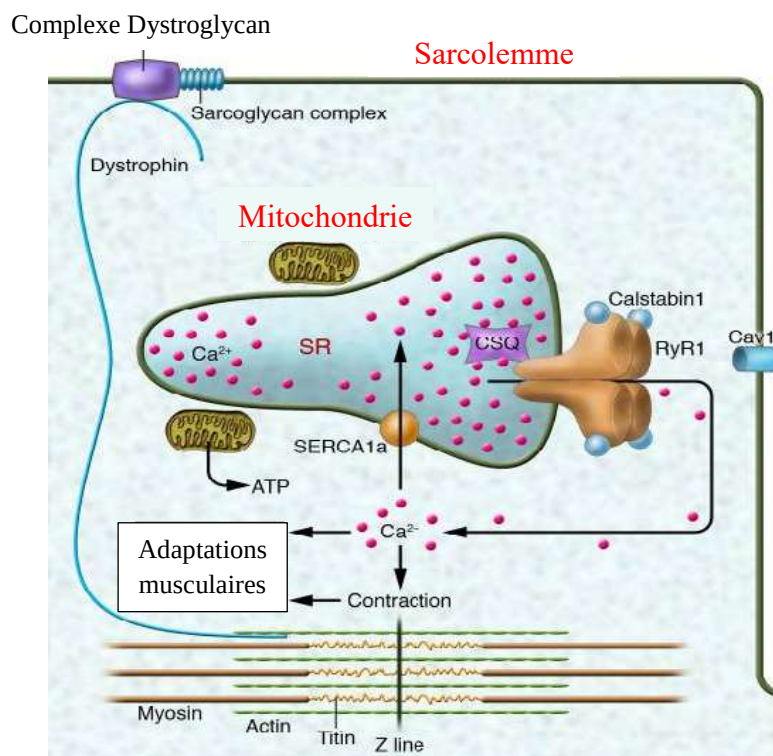


Figure 3. Représentation schématique du rôle joué par le Calcium et l'ATP dans la contraction musculaire. (Bellinger et al. 2008)

En résumé, la contraction musculaire est le résultat d'une commande nerveuse transmise par un motoneurone. La contraction musculaire n'est possible qu'en présence d'ATP et d'ions Ca^{2+} . Ces deux acteurs biochimiques déterminent l'environnement favorable permettant le glissement des filaments d'actine et de myosine les uns sur les autres, conduisant à la contraction musculaire. Ces mécanismes physiologiques permettant la contraction d'une fibre musculaire, sont identiques chez tous les individus sains. La traduction fonctionnelle de la contraction, est la force développée. **La force maximale développée par un groupe musculaire diffère en fonction des individus. Quels sont alors les déterminants de la production de force ?**

2. Les déterminants de la force musculaire maximale

La force musculaire est définie comme étant l'habilité à exercer une force sur un objet ou une résistance (Knuttgén and Komi 1992). L'amélioration de la force maximale, permet de perfectionner les qualités physiques requises dans la plupart des sports (i.e. sauter, changer de direction, sprinter), avec cependant des pondérations en fonction du type de sport (Suchomel et al. 2016). La force maximale représente donc un déterminant majeur de la performance sportive. Nous allons voir dans cette partie quelques-uns des principaux déterminants de la force maximale. Il s'agit d'une description non exhaustive, d'autres paramètres périphériques - que nous ne développerons pas dans ce manuscrit - tels que les coordinations inter-musculaires et inter-segmentaires, les interactions muscles-tendons et les adaptations neuro-musculaires peuvent également impacter les capacités de production de force maximale.

2.1. Le volume musculaire

L'ensemble constitué par un motoneurone et les fibres qu'il innerve constitue une unité motrice (UM) (Enoka and Fuglevand 2001). Plus le nombre d'UM recruté est élevé, plus la force musculaire est importante. Cette activation des UM dépend directement de l'intensité du stimulus électrophysiologique, donc de l'activation neuronale (Heckman and Enoka 2012). Plus le stimulus (en volt) appliqué aux nerfs est intense, plus le nombre d'UM recruté est important. La force maximale est obtenue dès lors que toutes les UM sont recrutées. Dans ces conditions, la force développée ne s'accroît plus, malgré l'augmentation du stimulus électrique.

Par ailleurs, avec l'augmentation de l'intensité du stimulus, ce sont les UM comprenant des fibres de gros diamètre qui sont recrutées (loi de la taille de Henneman). Enoka (1995) a observé que les UM les plus grosses, qui possèdent des fibres musculaires de gros diamètre et en grand nombres, produisent une force de contraction jusqu'à 50 fois supérieure aux plus petites. Elles dépendent de neurones plus gros et moins sensibles, qui seront donc activées à des intensités de stimulus plus importantes. Ainsi, l'activation de ces grosses UM est induite

seulement en cas de nécessité de production de force importante. Ce principe permet aux muscles d'adapter leur production de force en fonction du mouvement demandé. La force maximale est donc indéniablement corrélée au nombre et à la taille des fibres musculaires activées (Fukunaga et al. 2001).

En bref, un des déterminants principaux de la capacité de production de force est donc le volume musculaire. L'entraînement et la nutrition peuvent impacter le volume musculaire. Nous développerons ces aspects dans les chapitres suivants.

2.2. L'architecture musculaire

Les paramètres architecturaux comme la longueur des fascicules et l'angle de pennation conditionnent la vitesse et la force de contraction des fibres musculaires (Narici 1999).

Longueur des fascicules

Il existe une relation étroite entre la longueur du muscle avant la contraction et la force produite par chacune des fibres musculaires. Chaque muscle a une longueur optimale (l_0) à laquelle correspond la force maximale produite lors du tétanos (plateau de force) (Edman 1966, Lieber and Friden 2000) (Figure 4). Cette relation force-longueur s'explique au niveau cellulaire, par le glissement des fibres. En effet, à cette longueur les filaments fins sont en face de toute la partie des filaments épais portant les ponts d'union. Ainsi, le nombre de sites de liaison de l'actine en mesure de se lier aux ponts d'union est maximal à cette longueur, ce qui entraîne la production de force maximale (Fitts et al. 1991). Lorsque les sarcomères sont courts, la force produite est réduite. Ceci s'explique par deux facteurs. D'une part les filaments épais finissent par buter sur les lignes Z, ce qui empêche tout raccourcissement supplémentaire. D'autres parts, les filaments se chevauchent ce qui réduit le nombre de sites d'actine accessibles aux ponts d'union. Aux longueurs supérieures à l_0 , seule une partie des filaments fins de myosine sont en contact avec les filaments épais d'actine. Certains ponts d'union n'ayant plus de sites de liaisons en face d'eux, ne peuvent, par conséquent, pas être utilisés (Figure 4). Ainsi, la longueur des filaments contractiles détermine le taux de recouvrement des myofilaments (Rassier et al. 1999).

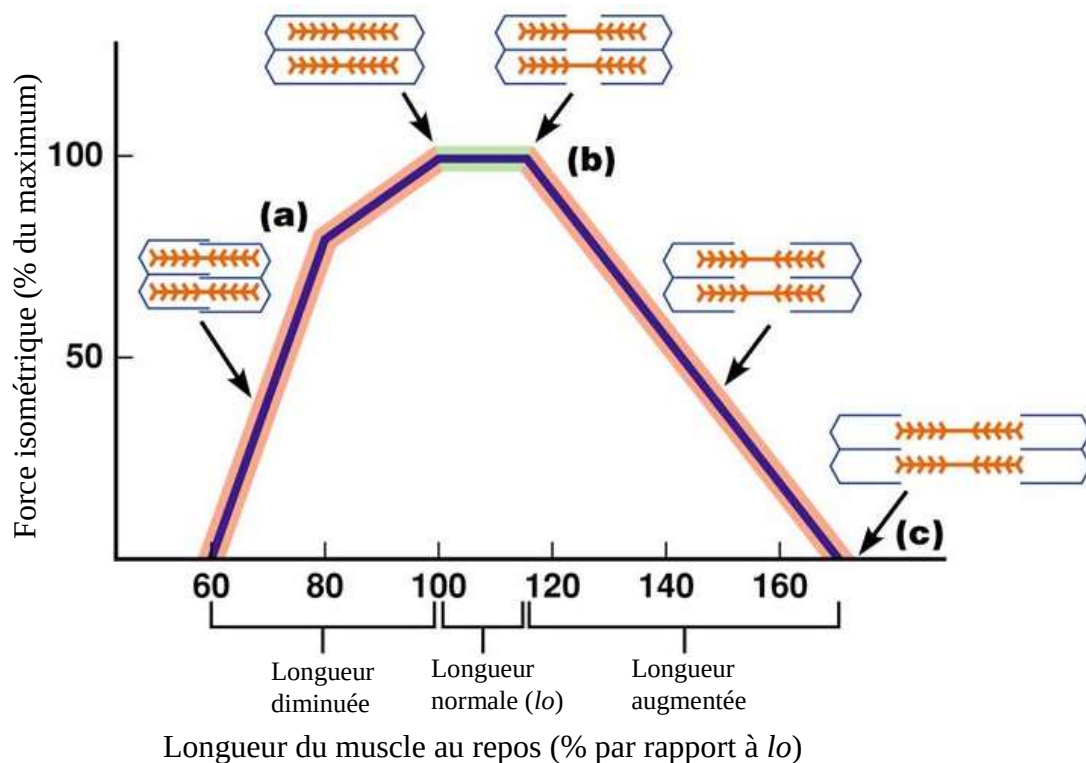


Figure 4. Relation entre la longueur du muscle et la production de force maximale. Lorsque la longueur des fibres est diminuée (a), les filaments d'actine et de myosine se chevauchent, ne permettant pas d'être à l'état maximum de la production de force (50%). A leur longueur optimale (b), la force maximale est atteinte (100%, téтанos ou seuil), tous les filaments d'actine et de myosine se retrouvent en face les uns des autres. Sur des longueurs de fascicules supérieures (c), la force est amoindrie car le nombre de ponts d'union est diminué.

Par ailleurs, la vitesse maximale (V_{max}) d'une fibre musculaire est proportionnelle à sa longueur (en supposant un niveau d'activation constant) (Cormie et al. 2011). Etant donné que la puissance est largement influencée par la vitesse et la force maximales, un fascicule long permettra de générer plus de puissance qu'un fascicule court (Cormie et al. 2011). Plusieurs chercheurs ont mis en évidence l'existence d'une corrélation significative entre la longueur des fascicules des muscles du vaste latéral (cuisse) et gastrocnémien (mollet), et le temps en sprint sur 100m, chez les femmes et les hommes (Kumagai et al. 2000, Abe et al. 2001). De plus, Abe et al. (2001) ont observé - dans une étude impliquant 23 sprinters, 24 coureurs de longue distance et 24 sujets non entraînés - des fascicules des muscles des jambes significativement plus long chez les sprinters comparativement aux athlètes d'endurance et au groupe contrôle.

Les études mettent donc en évidence l'importance de la longueur des fascicules dans la capacité à générer une force rapidement, et ainsi la capacité à produire une puissance élevée lors de mouvements dynamiques.

Angle de pennation

L'angle de pennation, défini par Huijing (1985), représente l'angle entre les fascicules des muscles et la ligne d'action. Plus l'angle de pennation augmente, plus le nombre de sarcomères placés en parallèle est important. Le nombre de sarcomères à disposition est un déterminant majeur de la production de force (Gans 1982). Par conséquent, l'augmentation de l'angle de pennation permet de disposer de plus de tissu contractile, majorant ainsi la capacité de production de force.

En résumé, générer de la force dépend directement des caractéristiques architecturales des fibres musculaires. Celles-ci semblent être déterminées, en partie, par des facteurs génétiques (Abe et al. 2001). Cependant, la comparaison de différentes populations de sportifs met en avant la plasticité de l'architecture musculaire. En effet, l'entraînement est un des facteurs de l'optimisation de l'architecture musculaire (Kawakami et al. 2006). Nous verrons dans la partie 5 de ce chapitre, les adaptations architecturales à un entraînement en musculation. En revanche, les stratégies nutritionnelles ne semblent avoir aucun impact sur les déterminants architecturaux impliqués dans la force.

2.3. La surface de section transversale physiologique

Nous avons vu précédemment que la force dépend directement du volume et de l'architecture des muscles squelettiques. Afin de regrouper l'ensemble de ces facteurs dans une mesure, la notion de surface de section transversale physiologique (PCSA), a émergée. Cette PCSA est le résultat du volume musculaire divisé par la longueur des fibres musculaires multiplié par le cosinus de l'angle de pennation. Elle dépend donc des trois facteurs précédemment cités, et est proportionnelle à la force maximale d'un muscle (Narici et al. 1992). Plus la masse musculaire augmente, plus la force contractile est importante. En revanche, pour un volume musculaire constant, les déterminants architecturaux tels que l'augmentation de l'angle de pennation et la longueur des fibres, permettent d'améliorer la PCSA. Cet agencement des fibres au sein du muscle, augmente la quantité de matériel contractile disponible, et permet par conséquent, d'accroître la force musculaire maximale (Fukunaga et al. 2001).

La force maximale dépend principalement du volume musculaire, qui peut être modulé par l'entraînement et la nutrition. La force développée dépend également de facteurs architecturaux, tels que l'angle de pennation et la longueur des fascicules, lesquels sont en partie innés, mais peuvent être modifiés par l'entraînement. **La force est impliquée dans la capacité de production de puissance, autre facteur déterminant de la performance sportive.**

3. Les déterminants de la puissance musculaire maximale

L'activité physique nécessite de produire des niveaux de force à différentes vitesses. Par conséquent, la puissance, qui résulte de l'interaction entre la force et la vitesse, est une caractéristique indéniable de la performance. Il existe effectivement un lien étroit entre la puissance maximale et la performance sportive, notamment pour des disciplines impliquant des mouvements balistiques et nécessitant des qualités physiques d'explosivité (Cronin and Hansen 2005). Quelles caractéristiques doivent alors présenter les unités motrices des membres inférieurs et supérieurs pour exceller dans des mouvements explosifs ?

3.1. La définition de la puissance : relation force-vitesse

Un mouvement explosif peut être défini par un mouvement réalisé de manière maximale et visant à accélérer le plus possible une masse mobile (Cormie et al. 2011). Ainsi, la puissance est le résultat du produit de la force par la vitesse de déplacement. Il s'agit d'une caractéristique physique qui s'exprime en watts (c'est-à-dire en joule par seconde). Différentes approches ont été utilisées afin de caractériser la relation force-vitesse, incluant des niveaux d'investigation moléculaires, cellulaires, musculaire *in vitro*, musculaire *in vivo*, en mouvement poly et mono-articulaire (Komi 1974, Caiozzo et al. 1981). Au regard de toutes ces approches, la relation force-vitesse est d'allure « hyperbolique » (Figure 5).

Comme vu précédemment, la force maximale musculaire dépend, en partie, du nombre de ponts d'union liés à l'actine. Or, à des vitesses élevées de contraction musculaire, le nombre de ponts d'union est diminué. Ainsi, la force décroît à mesure que la vitesse de contraction augmente (van Zandwijk et al. 1996). La puissance musculaire est par conséquent, maximale à des valeurs concomitantes de force et de vitesse sous-maximales. Hill (1938) précise les paramètres de la relation force-vitesse. Celle-ci dépend de la force maximale (F_{max}), la vitesse maximale (V_{max}), et du degré de courbure (a/F_{max} et/ou b/V_{max}), où a et b sont des constantes ayant des valeurs de force et de vitesse, respectivement. Améliorer la puissance maximale implique donc, d'augmenter la F_{max} , la V_{max} et/ou de diminuer le degré de courbure (Cormie et al. 2011).

Etre puissant, nécessite donc d'être « fort et rapide », ce qui sous-entend du point de vue de la physiologie musculaire, de posséder une masse musculaire importante, comportant principalement des fibres musculaires de gros diamètres (déterminant de la F_{max}), et de typologie « rapide » au sein des UM (déterminant de V_{max}). Tous les déterminants de la force

détaillés précédemment impactent donc la puissance. Nous allons discuter dans cette partie de la vitesse, autre facteur qui influence la puissance.

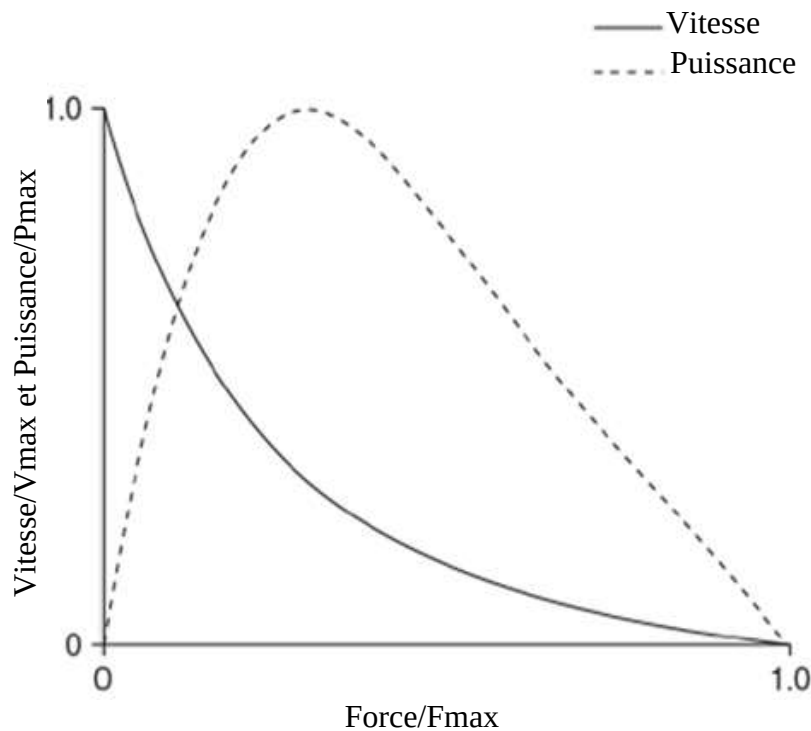


Figure 5. Relations force-vitesse et relations puissance-vitesse au niveau du muscle isolé. La force est exprimée par rapport à la force maximale (F_{max}), développée à vitesse nulle. La puissance est exprimée en fonction de la puissance maximale (P_{max}), développée par le muscle lors d'une contraction. La vitesse est exprimée par rapport à la vitesse maximale (V_{max}), observée pour une force nulle. (Cormie et al. 2011)

3.2. La typologie des fibres musculaires

Caractéristiques de la typologie des fibres musculaire

Les fibres musculaires varient selon de nombreuses caractéristiques, ce qui permet d'en définir différents types. L'une des premières classifications des fibres musculaires a reposé sur les différences physico-chimiques de la myosine-ATPase (Brooke and Kaiser 1970). La sensibilité de cette ATPase à différents pH acides, a permis de classer les fibres selon 3 types : lentes de type I, et rapides de types IIA et IIB. Les fibres de type I contiennent principalement l'isoforme lente de type I des chaînes lourdes de myosine. Les fibres rapides de type IIA contiennent principalement l'isoforme de type IIA des chaînes lourdes de myosine. Les fibres rapides de type IIB contiennent l'isoforme de type IIX des chaînes lourdes de myosine (Figure 6). Cette classification repose sur les différences des caractéristiques physico-chimiques et catalytiques de l'ATPase qui déterminent les vitesses de contraction des fibres musculaires. Par

ailleurs, aux caractéristiques contractiles des fibres, sont souvent associées (mais pas de manière systématique), des propriétés métaboliques (prédominance des métabolismes oxydatif ou glycolytique) et morphologiques (capillarisation, densité mitochondriale) (Tableau 1).

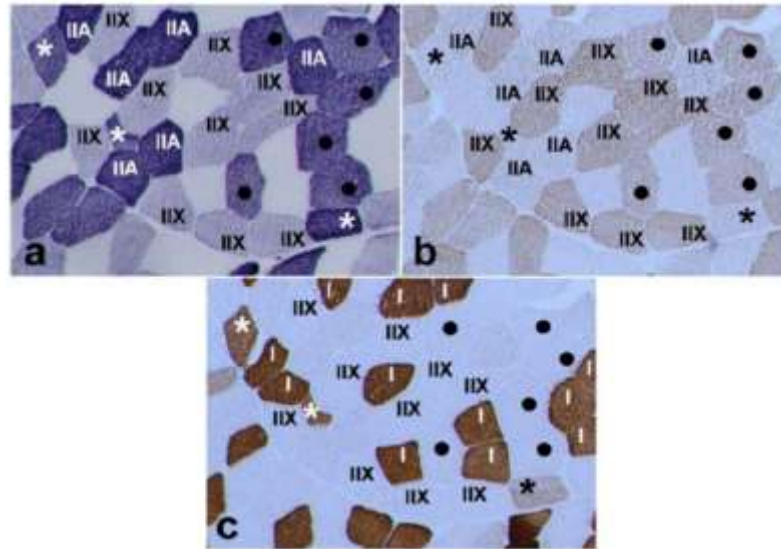


Figure 6. Détermination des différentes typologies musculaires au sein du vaste latéral chez l'Homme. Des isoformes de type I, IIA et IIX sont détectées. (*), représente des hybrides contenant à la fois des chaînes lourdes de myosines de type IIA/IIX. (•), correspond aux chaînes lourdes de myosines de type IIA/I.

Tableau 1. Caractéristiques des différentes typologies musculaires (I, IIA et IIX)

	Caractéristiques	Type I	Type IIA	Type IIX
Morphologie	Taille des Fibre	Petite*	Intermédiaire	Grande
	Capillaires/mm ²	Elevé	Intermédiaire	Faible
	Densité en Mitochondries	Elevée	Intermédiaire	Faible
Histo- et Bio-chimie	Myosine ATP-ase	Faible	Elevée	Elevée
	Capacité Glycolitique	Faible	Elevée	Elevée
	Capacité Oxydative	Elevée	Elevée/Modérée	Faible
Contractibilité	Contraction	Lente	Rapide	Rapide
	Relâchement	Lent	Rapide	Rapide
	Resistance à la fatigue	Elevée	Modérée/Elevée	Faible
Adaptations[§]	Augmentation de la Surface de section transversale	Faible	Modérée	Modérée

* Pas toujours ; dépend des muscles.

§ Après plusieurs semaines d'entraînement en musculation

Lien entre la typologie des fibres musculaires et la capacité de puissance

Comme décrit précédemment, la puissance musculaire est une grandeur combinant la force et la vitesse de contraction. L'explosivité du mouvement, caractérisée par cette notion de puissance, dépend aussi (en dehors de la délivrance de force), de l'équipement des muscles en fibres rapides. En effet, les fibres musculaires rapides de type II ont une plus grande capacité à générer une puissance par surface de section transversale (CSA) comparés aux fibres de type I (Tihanyi et al. 1982, Widrick et al. 2002). *In vitro*, Widrick et al. (2002), ont mesuré, sur fibres musculaires isolées du vaste latéral, une puissance maximale par unité de CSA, cinq à dix fois supérieure pour les fibres de type IIA et IIX respectivement, comparées aux fibres de type I. Cependant, ces propriétés contractiles ont été mesurées *ex vivo* (température de 15°C), ce qui ne permet pas d'émettre les mêmes conclusions que pour des mesures *in vivo*. Dans de rares études mesurant les propriétés contractiles de fibres musculaires humaines intactes à 37°C, les fibres musculaires de type II ont enregistré des vitesses maximales de raccourcissement trois fois supérieures à celles des fibres de type I, et une puissance maximale quatre fois supérieure à celle produite par les fibres de type I (pour revue, Cormie et al. 2011).

Faulkner et al. (1982) ont montré que le rapport a/F_{max} (où a représente une des constantes de la relation force-vitesse, suivant l'équation de Hill) est plus élevé lors de la contraction des fibres de type II comparées aux fibres de type I. Or, a/F_{max} représente le degré de courbure dans la représentation graphique de la relation force-vitesse. Il correspond donc à la capacité à générer rapidement un niveau de force élevé. D'après ce mécanisme, les fibres de type II auraient donc une meilleure capacité de production de puissance comparées au type I (Faulkner et al. 1982).

Cependant, c'est principalement par leurs caractéristiques de vitesse de contraction que les fibres musculaires rapides de type II sont reconnues pour développer une puissance importante.

Lien entre la typologie musculaire et la vitesse maximale

Les propriétés de la myosine ATP-ase des fibres de type II permettent d'enchaîner un grand nombre de cycles de liaisons actine-myosine par unité de temps, ce qui rend compte de leur vitesse de contraction élevée (600 cycles/seconde contre 300 cycles/seconde pour les têtes des chaînes lourdes de myosine de type I) (Barany 1967, Faulkner et al. 1982). Au niveau moléculaire, ceci se traduit par des liaisons de l'ATP à la myosine plus fréquentes, permettant le détachement des têtes de myosine plus rapidement et ainsi des cycles de ponts d'union plus courts. Au niveau musculaire, il en résulte une vitesse de contraction élevée.

Afin d'illustrer l'importance de la typologie des fibres musculaires dans la performance en sprint, Trappe et al. (2015), ont eu l'opportunité d'effectuer une biopsie sur un sprinter champion du monde au 60m. Ils ont montré une proportion de fibres de type IIX largement supérieure à celle jamais évaluée dans les autres études menées sur des sportifs non élites (~32,5% contre ~15%). De plus, la puissance des fibres de type IIX et IIA enregistrée sont également supérieures, à celle des sportifs amateurs.

Il existe une corrélation forte entre la vitesse de sprint et le contenu en fibres de type IIX chez les différentes espèces de mammifères (Kohn et al. 2011). Les muscles des guépards, par exemple, contiennent 70% de fibres de type IIX et atteignent des vitesses de course pouvant atteindre 125km/h. Il ne s'agit cependant, pas du seul déterminant, puisque les muscles des chevaux contiennent ~30% de fibres de type IIX - les mêmes proportions que celles retrouvées chez le sprinter champion du monde - cependant les chevaux atteignent une vitesse maximale de course bien supérieure (~75km/h) à celle du sprinter (~30km/h). La masse musculaire plus importante chez les chevaux permet d'expliquer en partie ces différences. Egalement, d'autres déterminants biomécaniques - que nous ne développerons pas dans cette thèse - entrent en jeu dans ces aspects de la performance en sprint.

Lien entre la typologie musculaire et la capacité de production de force maximale

Lors d'une stimulation électrique, la production de force, normalisée par unité de surface, est légèrement plus importante pour les fibres de type II (rapides), comparées aux fibres de type I (lentes) (Bottinelli et al. 1996). Ce constat n'est pas directement lié aux caractéristiques des protéines de contraction (notamment de la myosine ATP-ase), mais aux caractéristiques morphologiques de ces types de fibres (Tableau 1). Au sein des fibres lentes, la densité en mitochondries est plus importante qu'au sein des fibres rapides (notamment de type IIX). Inversement, la densité en myofibrilles est plus faible. Au niveau musculaire, la force normalisée par unité de section, est donc légèrement plus faible pour les fibres de type I (Hather et al. 1991).

En résumé, de nombreux arguments confirment que les fibres musculaires rapides (de type IIA ou IIX) sont celles qui développent les puissances les plus élevées. Ceci résulte principalement d'une meilleure capacité de vitesse de contraction pour les fibres de type II comparées aux fibres de type I. Ainsi, en dehors de la masse musculaire, le type de fibres influe sur la vitesse de raccourcissement du muscle et donc sur la puissance maximale développée par le muscle.

La puissance musculaire est tributaire de la force et de la vitesse. Ainsi, les facteurs influençant positivement la force et/ou la vitesse permettent d'améliorer la puissance musculaire. Il s'agit principalement de facteurs caractérisant les fibres musculaires, tels que le volume musculaire, l'angle de pennation, la longueur des fascicules et la typologie musculaire. La description ci-dessus est non exhaustive, d'autres facteurs entrent en jeu dans la production de puissance tels que les propriétés des tendons et les facteurs neuronaux (capacité de recrutement des unités motrices, fréquence de stimulation, synchronisation, coordination, co-activation des antagonistes, etc.). L'entraînement permet l'acheminement d'adaptations musculaires en faveur du gain de force et/ou de vitesse, en fonction du type d'entraînement. Ces adaptations passent par des modifications architecturales, de typologie musculaire et du volume musculaire. La nutrition, quant à elle, peut majorer les effets de l'entraînement sur le gain de masse musculaire uniquement. **Les réponses du muscle à l'entraînement en musculation, avec ou sans supplémentation en protéines seront traitées dans la Partie 5 (entraînement seul) et le Chapitre III (entraînement et apport protéique).**

4. Les déterminants de la résistance à la fatigue musculaire

Depuis 1984, la fatigue musculaire est définie par « une réduction de la capacité du muscle à générer une puissance ou une force, induite par l'exercice, indépendamment de l'achèvement de la tâche » (Bigland-Ritchie and Woods 1984) et « une augmentation progressive de l'effort requis pour la production d'une force désirée, suivie d'une incapacité progressive de maintenir cette force de manière continue ou répétée » (Enoka and Stuart 1992). Cette dernière définition, prend en considération le fait que la fatigue musculaire apparaît avant la baisse de la performance et donc avant l'arrêt de la tâche, ce qui lui confère un rôle de protection de l'organisme.

Classiquement, on distingue la fatigue centrale, lorsque l'origine de la perte de force est située en amont de la jonction neuromusculaire, et la fatigue périphérique, lorsque cette limitation se situe au-delà de la jonction neuromusculaire (Figure 7). Cette dissociation reste arbitraire puisqu'il existe des échanges d'informations entre les déterminants centraux et périphériques de la force (Enoka and Duchateau 2008). De plus, les mécanismes périphériques et centraux peuvent partiellement être impliqués, à des degrés différents, en fonction du type, de la durée et de l'intensité de l'exercice, ainsi que du type de groupe musculaire mobilisé et du niveau individuel d'aptitude physique (Bigard et al. 1993).

Au cours ou à l'issue d'un exercice fatigant, on observe une altération de la contraction musculaire (Babault et al. 2006). Ce constat est d'origine multifactorielle et semble résulter de la dégradation combinée des processus électriques, chimiques et mécaniques impliqués dans la production de force. Or, dans de nombreux sports, la capacité à maintenir ou à répéter des

contractions d'intensité élevée est déterminante pour la performance (i.e. judo, lutte, rugby, kayak, hand-ball, football, etc.). C'est pourquoi, nous allons étudier dans cette partie les facteurs à l'origine de la fatigue musculaire périphérique.

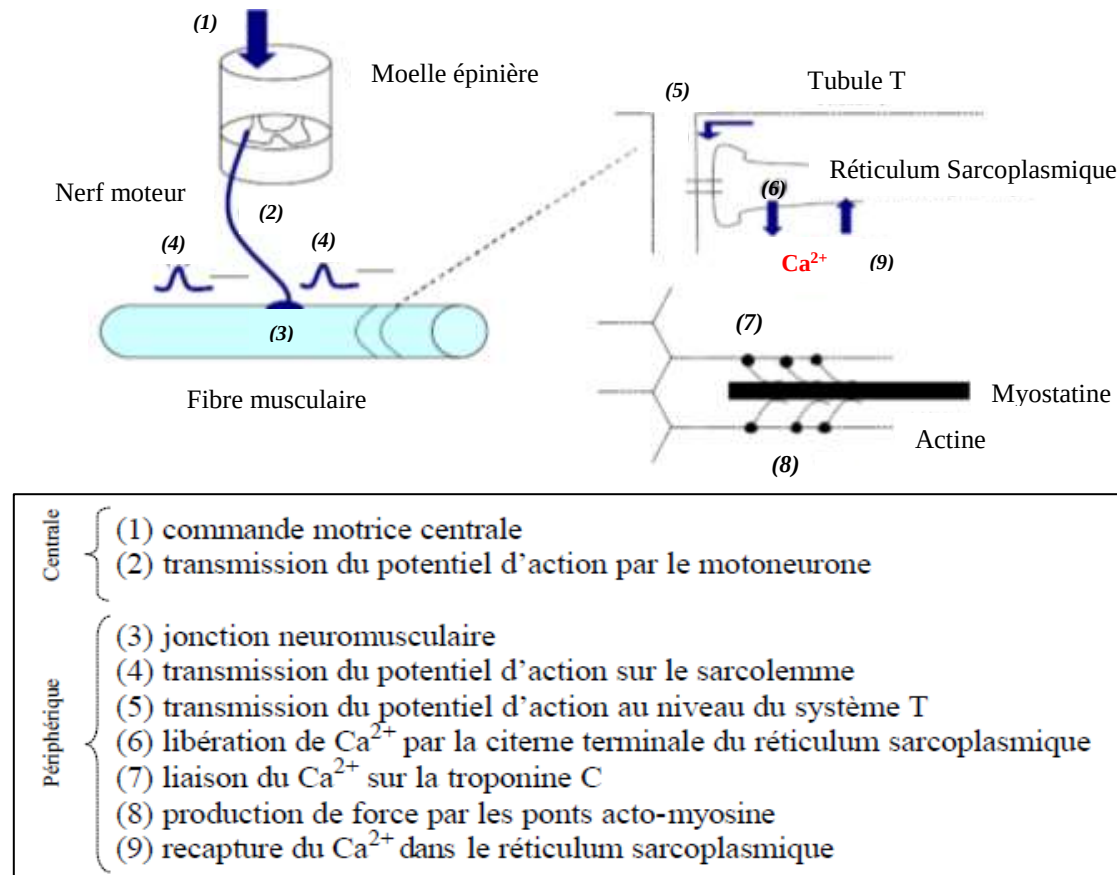


Figure 7. Sites possibles de la fatigue musculaire. (d'après Westerblad et al. 1991)

4.1. L'excitabilité de la membrane de la fibre musculaire

Au cours d'une contraction prolongée, la succession de PA provoque un déséquilibre des concentrations ioniques en Na^+ (sodium) et K^+ (potassium) de part et d'autre de la membrane cellulaire. Les pompes Na^+/K^+ ATP-dépendantes utilisent l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP afin de transporter trois ions Na^+ à l'extérieur de la cellule et faire entrer deux ions K^+ , afin de restaurer l'homéostasie cellulaire. Une altération de l'activité de ces pompes au cours d'un exercice fatigant (i.e. baisse de concentration en ATP) induit alors une altération de la recapture intracellulaire de potassium (Sjogaard 1988). Cette fuite extracellulaire de potassium altère l'excitabilité de la membrane cellulaire, et réduit la propagation du PA vers le RS et par conséquent, la libération du Ca^{2+} .

Ainsi, pour certains auteurs la fatigue périphérique pourrait être liée à des changements de gradients potassiques à travers les membranes (Sjogaard et al. 1985, Lindinger and Sjogaard 1991). A l'origine de l'altération de ce gradient ionique, on retrouve un mauvais fonctionnement des pompes Na^+/K^+ ATP-dépendantes, par mauvaise resynthèse de l'ATP.

4.2. Les changements métaboliques

Lors d'une contraction isométrique maximale prolongée, la force développée diminue, alors que dans un premier temps, la concentration intramusculaire en Ca^{2+} est élevée, suggérant une dégradation de la production de force au niveau des myofibrilles due à une mauvaise disponibilité en ATP (Figure 8, encadré en rouge). Dans un second temps, la diminution de la force est associée à une baisse de la quantité de Ca^{2+} libérée par le RS (Figure 8, encadré en orange ; Allen et al. (2008)). Deux acteurs métaboliques peuvent alors induire la survenue de la fatigue : une baisse d'énergie sous forme d'ATP et/ou une baisse de concentration en calcium. Nous allons voir, quels facteurs métaboliques induits par l'exercice peuvent affecter la disponibilité en ATP et Ca^{2+} , et participer ainsi à la survenue de la fatigue musculaire.

Le cycle du calcium

Comme rappelé précédemment, le cycle du Ca^{2+} est indispensable pour assurer la contraction musculaire (Paragraphe I.1). Par ailleurs, une parfaite cinétique de libération et recapture de cet ion permet le maintien de la contraction, ce qui fait de la cinétique du Ca^{2+} un déterminant majeur de la résistance à la fatigue. Le calcium est libéré du RS par le canal à la ryanodine (forme RyR1 dans le muscle squelettique) qui régule ainsi le flux sortant de Ca^{2+} du RS. L'arrivée d'un potentiel d'action permet l'ouverture rapide de RyR1 et la libération massive de Ca^{2+} . La stabilité de fonctionnement de RyR1 est liée à la fois à son interaction avec les récepteurs à la dihydropyridine (DHPR), et à la fonction de molécules chaperonnes comme la calstabile-1 (Bellinger et al. 2008). Au cours de la contraction prolongée, on constate une rupture des liens fonctionnels entre les calstabines-1 et RyR1. Certaines de ces molécules chaperonnes fuient, ce qui altère la fermeture de ce canal, induit une fuite calcique, l'accumulation de Ca^{2+} dans le sarcoplasme, l'altération de la contraction, et la fatigue musculaire.

Par ailleurs, lors de contractions efficaces, le Ca^{2+} libéré lors des premiers temps du couplage excitation-contraction est rapidement recapté par le RS au moyen de pompes ioniques dépendantes de l'ATP. Il s'agit des SERCA, présentes sous deux types d'isoformes, 1 au niveau des fibres rapides, et 2a au niveau des fibres lentes. L'altération de la fonction de ces pompes

va majorer la présence de Ca^{2+} dans le sarcoplasme et précipiter la survenue de la fatigue musculaire. Cette altération de la fonction des SERCAs est très souvent concomitante de la baisse des capacités de resynthèses de l'ATP survenant au cours du travail musculaire prolongé. Le statut énergétique des fibres musculaires et la baisse de la disponibilité en ATP majore le risque de survenue de la fatigue en altérant les mécanismes de recapture du Ca^{2+} dans le RS.

Les contractions prolongées peuvent être à l'origine d'une altération de la cinétique de libération-recapture du Ca^{2+} dans le RS, ce qui se traduira à très court terme par une faillite de la contraction. L'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire est liée à la fois à sa fuite depuis le RS au travers RyR1, et à une altération de sa réintégration dans le RS par les SERCAs.

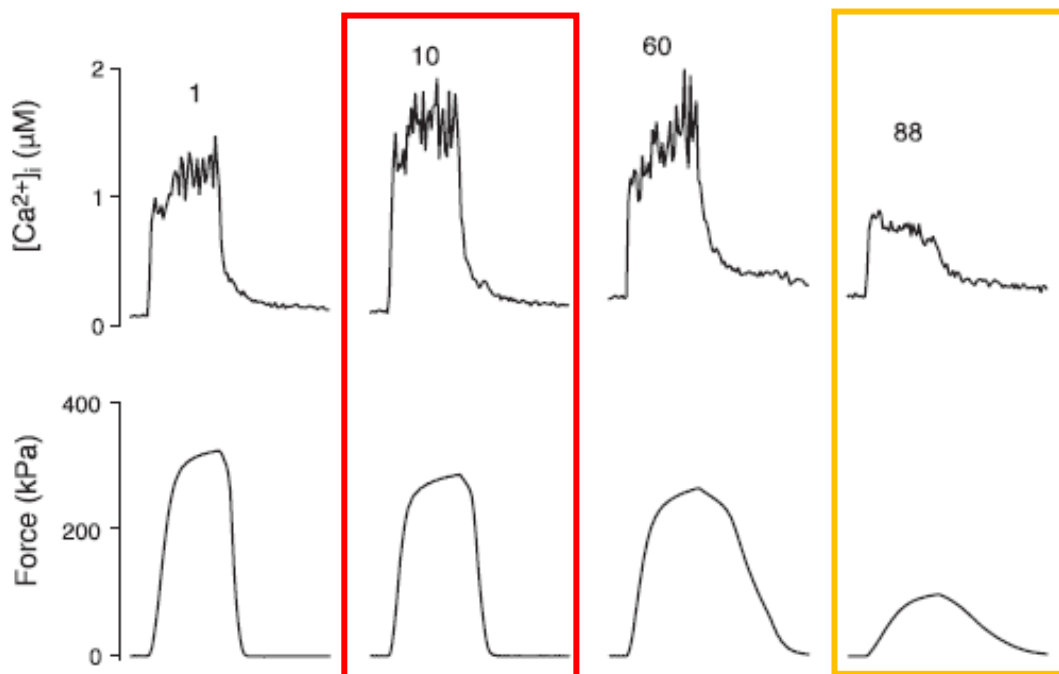


Figure 8. Relation entre la concentration intracellulaire en Ca^{2+} et la force isométrique développée lors de différentes phases de fatigue, au niveau des fibres musculaires de souris. (Allen et al. 2008)

Lactate et H^+

Au cours d'un effort, les ions H^+ s'accumulent en relation avec l'hydrolyse de l'ATP et la production d'acide lactique (qui se produit dès lors que la glycolyse anaérobie prend une part importante dans la fourniture énergétique). L'accumulation de H^+ a longtemps été considérée comme une cause importante de la baisse de production de force. En effet, l'accumulation d'ion

H^+ , induit une acidose intracellulaire qui affecte le couplage excitation-contraction, en altérant la libération des ions calciques par le RS et l'affinité des ions Ca^{2+} à la Troponine C (Wolosker and de Meis 1994). L'accumulation d'ions H^+ diminue donc le nombre de ponts acto-myosines, et par conséquent la force développée (Blanchard and Solaro 1984).

Par ailleurs, l'amélioration du pouvoir tampon de l'organisme par l'ingestion de Bicarbonate de Sodium ou de Citrate de Sodium, peut améliorer la résistance à la fatigue lors d'exercices intermittents réalisés à haute intensité (Hauswirth et al. 1995, Jones et al. 2016, Burke 2017). Ce qui suggère bien l'existence de l'effet délétère de l'acidification des cellules musculaires sur la capacité de contraction, et donc sur l'apparition de la fatigue musculaire.

La baisse du pH intramusculaire a donc une influence néfaste sur l'excitabilité membranaire (Orchardson 1978).

Phosphate inorganique (P_i)

Durant des périodes de haute demande énergétique, la concentration en ATP reste quasiment constante dans un premier temps. En revanche, la concentration en P_i s'élève au cours de l'exercice, en raison de la dissociation de la Phosphocréatine ($PCr \rightarrow Cr + P_i$) et de l'hydrolyse de l'ATP ($ATP \rightarrow ADP + P_i$). L'accumulation de P_i pourrait perturber le maintien de la production de force, en diminuant la sensibilité des myofibrilles au Ca^{2+} et en agissant directement au niveau des ponts d'union. En effet, l'augmentation de la concentration en P_i en condition de fatigue perturbe le déroulement des cycles de contraction-relâchement des ponts d'union. Ces résultats suggèrent que la diminution de la force produite, observée dans les premiers instants de la contraction, alors que la concentration intracellulaire en Ca^{2+} est élevée, serait due à l'accumulation de P_i . Ensuite, lorsque l'exercice musculaire se poursuit, la baisse de production de force est liée à la diminution de quantité de Ca^{2+} libérée par le RS. L'accumulation du P_i au sein de la cellule musculaire favorise sa pénétration dans le RS. Le P_i se lie alors aux ions Ca^{2+} pour donner du phosphate de calcium ($Ca^{2+}-P_i$). Cette liaison $Ca^{2+}-P_i$ limite la quantité de Ca^{2+} présente dans les citernes du RS et pouvant être libérée au niveau du sarcoplasme (pour revue, Allen et al. 2008).

Les variations de concentration en P_i et en ATP sont donc à l'origine de la dégradation de la libération du Ca^{2+} , mécanisme altérant la capacité à maintenir un niveau de force maximal.

ATP et ions Magnésium (Mg^{2+})

Lors de l'exercice, les concentrations intracellulaires de Mg^{2+} augmentent. Cette augmentation de Mg^{2+} au cours de l'exercice serait en partie due à la liaison des ions Mg^{2+} aux molécules d'ATP (dégradées lors de l'exercice). De plus, l'activation des canaux calciques du RS libère des ions Mg^{2+} , pouvant participer également à l'augmentation de leur concentration intracellulaire. Or, les ions magnésium pourraient être impliqués dans la dégradation de la libération du Ca^{2+} car ils interviennent dans le fonctionnement du RS. En effet, lors de l'activation musculaire, une augmentation de la concentration en Mg^{2+} dans le sarcoplasme réduit la libération du Ca^{2+} par le RS (Allen et al. 2008).

Par l'altération de la libération de Ca^{2+} , l'accumulation intracellulaire d'ions Mg^{2+} participe alors à la diminution de la capacité de maintien d'une force maximale.

En résumé, le mauvais recyclage du calcium est à l'origine de l'apparition de la fatigue. Une diminution de la libération de Ca^{2+} à partir du RS entraîne une diminution de la force maximale, tandis que le retard de recapture de Ca^{2+} ralentit la relaxation du muscle. La baisse de disponibilité en ATP est à l'origine du dysfonctionnement de la libération/recapture du Ca^{2+} . Plus l'exercice est fatiguant, plus la demande d'ATP est accrue, et l'hydrolyse de l'ATP pour fournir de l'énergie, induit une accumulation de métabolites (i.e. P_i , Mg^{2+} , H^+). Ces métabolites accumulés altèrent la libération/recapture du calcium. De plus, la recapture des ions potassium est ATP-dépendante. Ainsi en cas de manque d'ATP lors d'exercices prolongés, une accumulation d'ions K^+ s'opère au sein de la cellule, perturbant également le recyclage du calcium. Les deux éléments déterminant de l'apparition de la fatigue sont donc le recyclage du Ca^{2+} et la disponibilité en ATP.

4.3. Effets des réserves énergétiques sur la fatigue musculaire

Au cours de l'exercice prolongé, le muscle doit faire appel à des sources d'énergie autres que la phosphocréatine (premier système de fourniture d'énergie pour la resynthèse de l'ATP). Dans ce cas, la glycolyse anaérobie et l'oxydation du pyruvate ou d'acides gras assurent la resynthèse d'ATP. La phosphorylation oxydative du pyruvate ou des acides gras permet la fourniture d'un très grand nombre de molécules d'ATP. Inversement, en conditions anaérobie (sans oxygène), la glycolyse se produit au niveau du cytosol et ne fournit que 2 molécules d'ATP par molécule de glucose oxydée.

Lien entre les réserves de glycogène musculaire et l'apparition de la fatigue lors d'exercices de longue durée

La balance d'utilisation du glucose et des acides gras dépend de l'intensité de l'exercice. Le muscle devient de plus en plus dépendant de la présence de glucose avec l'augmentation de l'intensité de l'exercice. C'est pourquoi, les performances sportives sont liées à l'état des réserves en glycogène au sein de l'organisme (muscles et foie). L'étude de Febbraio et Dancy (1999) en témoigne, puisqu'ils mettent en évidence l'existence d'une corrélation entre la concentration en glycogène du muscle (vaste latéral) et le temps limite réalisé lors d'un exercice à intensité incrémentale (exercice triangulaire) sur cycloergomètre (Febbraio and Dancy 1999).

L'apparition de la fatigue lors d'exercices de longue durée, dépend alors des réserves en glycogène.

Lien entre les réserves de glycogène musculaire et l'apparition de la fatigue lors d'exercices de courte durée

De plus, les faibles réserves en glycogène pourraient également être impliquées dans survenue de la fatigue lors de contractions très courtes, ne nécessitant pas l'oxydation du glucose pour fournir de l'énergie. En effet, la détection de faibles réserves en glycogène, participerait à l'apparition de la fatigue dès les premières minutes de la contraction musculaire, en inhibant la libération de Ca^{2+} par le RS (pour revue, Allen et al. 2008).

Les réserves en glycogène auraient donc un rôle à la fois structural et métabolique dans l'apparition de la fatigue. En pratique, il conviendra donc de commencer l'exercice avec des réserves en glycogène maximales, et de limiter la baisse des réserves en glycogène pendant l'exercice.

4.4. Effets des espèces réactives de l'oxygène sur la fatigue musculaire

L'oxygène (O_2) permet d'assurer la fourniture de grandes quantités d'ATP grâce à la phosphorylation oxydative. Cependant, certaines espèces radicalaires de l' O_2 peuvent être délétères au sein de l'organisme. Il s'agit des espèces réactives de l'oxygène (EROs), qui sont définies comme étant « des molécules ou des ions contenant un ou plusieurs électrons non appariés (ou célibataire) qui cherchent la stabilité en s'associant à un électron proche » (pour revue, Lushchak 2014). Ces molécules, qui ont perdu un électron, peuvent alors devenir des radicaux libres. Bien qu'encore peu étudiés, ces radicaux libres semblent jouer un rôle dans la

fatigue lorsque leur production dépasse les capacités de leur neutralisation par les systèmes antioxydants, comme cela peut être le cas lors de l'exercice physique. Les EROs contiennent des molécules, hautement réactives, capables de modifier la structure des cellules et même des protéines. A des concentrations élevées (comme cela peut se produire lors d'états de fatigue avancée), certains EROs inhibent la fonction contractile (Andrade et al. 1998) et donc participent aux mécanismes de la fatigue musculaire.

En résumé, lorsque la balance entre anti-oxydants et radicaux libres est déséquilibrée, c'est-à-dire lorsque l'organisme se situe en état de stress oxydant, les EROs altèrent la contraction musculaire. En limitant la continuité de l'exercice intense, lors de stress oxydant, il y a prévention de déstructuration protéique et ainsi de dommages musculaires trop importants.

La contraction musculaire résulte de nombreux facteurs dépendant principalement de la présence de Ca^{2+} et d'ATP. La succession de réactions chimiques se produisant lors de la contraction musculaire engendre la libération de différents produits métaboliques. Certains de ces métabolites peuvent venir enrayer la mécanique de la contraction musculaire, entraînant en bout de chaîne, une diminution des capacités de production de force (i.e. apparition de fatigue). Ceci, représente dans un premier temps, un mécanisme de protection - activé lorsque les concentrations dépassent les mécanismes de protection cellulaire - de manière à protéger et prévenir des dommages musculaires. Puis, si l'effort se prolonge, l'arrêt de l'exercice résulte d'une incapacité physiologique à faire face à la demande. **Seul l'entraînement peut moduler ces mécanismes et améliorer la résistance à la fatigue (Partie 5.3).**

5. Les réponses du muscle à un entraînement en musculation

Le tissu musculaire est modulable et est capable de s'adapter au regard de la demande (activité ou inactivité). L'entraînement en musculation peut modifier la structure et le phénotype musculaire. Nous allons décrire, dans cette partie, les adaptations musculaires qui occurrent avec l'entraînement en musculation. Nous nous focaliserons uniquement sur les adaptations au sein des fibres musculaires, sans détailler les adaptations neuromusculaires associées à l'entraînement.

5.1 Effets de l'entraînement en musculation sur la force

Modulation du volume musculaire

Le diamètre des fibres musculaire (CSA) est augmenté par l'entraînement en musculation, processus appelé « hypertrophie » (Claassen et al. 1989). En outre, certaines études - principalement chez les rongeurs - suggèrent que l'augmentation de la masse

musculaire en réponse à un entraînement serait également le résultat d'une augmentation du nombre de fibres musculaire, phénomène appelé « hyperplasie » (pour revue, Kelley 1996). L'hyperplasie serait le résultat de l'activation des cellules satellites, permettant la formation de nouvelles fibres musculaires. En réponse à l'entraînement, elle serait deux fois moins importante que l'hypertrophie, et serait activée principalement à la suite d'un exercice avec étirement (i.e. travail en excentrique) (Kelley 1996). Cependant, en l'état actuel des connaissances, cette hypothèse n'est pas validée chez l'Homme (McGlory and Phillips 2015).

Le volume musculaire est augmenté au-delà de 6 à 8 semaines d'entraînement en musculation sans différence significative en fonction du mode de contraction (i.e. concentrique ou excentrique) (Franchi et al. 2017). L'hypertrophie musculaire est indéniablement accompagnée d'une amélioration des capacités de production de force (Moritani and deVries 1979).

L'entraînement en musculation induit donc une hypertrophie des fibres musculaire, laquelle est directement corrélée à la majoration de la production de force maximale.

Modification architecturale

Par ailleurs, l'entraînement en musculation induit des modifications architecturales favorables à la génération de force. Celles-ci passent, d'une part, par une augmentation de l'angle de pennation, qui permet de disposer de plus de sarcomères en parallèles, et donc d'améliorer la capacité de production de force (Franchi et al. 2017). L'augmentation de l'angle de pennation est observée après l'entraînement, quel que soit le mode de contraction. Bien qu'il semblerait que cette modification architecturale soit plus marquée à la suite d'un entraînement concentrique comparé à un mode de contraction excentrique (Franchi et al. 2014).

D'autre part, l'entraînement en musculation peut conduire à l'augmentation de la longueur des fascicules musculaires. Leur allongement, se traduit par une augmentation du nombre de sarcomères en série, facteur qui participe à l'amplification de la force. La longueur des fascicules est d'avantage modifiée après un exercice réalisé en excentrique comparé à un mode concentrique (Franchi et al. 2014, Franchi et al. 2015). Cette modulation architecturale peut être considérée comme un mécanisme de « protection », permettant d'ajouter du matériel contractile en série à la suite d'exercices en excentrique, qui induisent des dommages musculaires (Talbot and Morgan 1998).

Ces deux modifications architecturales induites par l'entraînement en musculation, sont les adaptations majeures du phénotype musculaire permettant d'accroître le niveau de force.

L'entraînement en musculation, peut donc améliorer la force musculaire, par le biais de l'augmentation du volume musculaire, associé à des modifications architecturales (i.e. angle de pennation et longueur des fascicules).

5.2. Effets de l'entraînement en musculation sur la puissance

La puissance dépend de deux caractéristiques, la force et la vitesse. Les adaptations musculaires décrites ci-dessus, permettant d'accroître le niveau de force, sont donc valables dans l'optique d'améliorer la puissance musculaire. En synergie, l'augmentation de la vitesse de contraction musculaire peut également améliorer la puissance maximale. Nous allons décrire dans cette partie les effets de l'entraînement en musculation sur la typologie des fibres musculaire et l'amélioration potentielle de la vitesse.

Lien entre la typologie des fibres musculaires et leur potentiel hypertrophique

Les fibres préférentiellement sujettes à l'hypertrophie, sont les fibres de type II (Hather et al. 1991). Le potentiel hypertrophique est donc directement lié à la typologie musculaire déjà présente au sein du muscle. Il est donc en partie, fonction de facteurs génétiques. Par ailleurs, si les fibres de type II sont plus volumineuses après un entraînement en musculation, elles occuperont une place plus importante au sein du muscle. Par ce mécanisme, la vitesse de contraction du muscle peut être améliorée.

Modification de la typologie musculaire et entraînement en musculation

Classiquement les fibres de type IIX augmentent leur contenu en isoforme de myosine de type IIA en réponse à un entraînement en musculation (Paoli et al. 2016). Cependant, ces modifications de typologie musculaire restent modérées et ne sont pas significatives dans toutes les études. Visiblement, l'entraînement en force ne permettrait donc pas de modifier rapidement la typologie musculaire, et ne permettrait pas d'augmenter la proportion de fibres de types II au regard des fibres de type I. L'entraînement en musculation ne modifierait donc pas directement la capacité de vitesse de contraction des fibres musculaires (Shoepe et al. 2003).

Entraînement en musculation et amélioration de la puissance musculaire

Au niveau de la performance musculaire, Lamas et al. (2012) ont montré que l'entraînement explosif concentrique (exécution rapide du mouvement avec des charges faibles), amplifie la performance en saut vertical comparé à un entraînement en force (charges élevées, peu de répétitions). En revanche, l'entraînement en force permet d'améliorer

d'avantage la composante « force » de la relation force-vitesse. S'appuyant sur ces travaux, Suchomel et al. (2016) préconisent d'alterner l'intensité des charges et la vitesse d'exécution du mouvement lors de l'entraînement en musculation, afin d'obtenir le bénéfice maximal de l'entraînement sur l'optimisation de la puissance musculaire (Suchomel et al. 2016).

La puissance est donc améliorée par l'entraînement en musculation. Ceci passe principalement par une amélioration de la force maximale, qui résulte de l'hypertrophie des fibres de type I et particulièrement de type II.

5.3. Effets de l'entraînement en musculation sur la résistance à la fatigue

Amélioration des capacités oxydatives des fibres musculaires

La présence de mitochondries varie de plusieurs centaines à plusieurs milliers au sein des muscles, en fonction de leur activité oxydative. Une masse musculaire plus importante et sollicitée régulièrement par l'entraînement en musculation (réalisé avec un nombre de répétitions important ou jusqu'à épuisement), nécessite des besoins énergétiques supérieurs. Dans ce cadre, les mécanismes d'oxydation peuvent être maximisés en réponse à l'entraînement en musculation, lorsque celui-ci comporte des séries dépassant les quinze/vingt secondes d'effort consécutif (pour revue, Willardson 2007).

Amélioration du recrutement des fibres musculaires

Par ailleurs, nous savons que l'entraînement en musculation améliore la sensibilité à la commande motrice induite par le motoneurone, ce qui augmente le nombre de fibres musculaires recrutées. Ainsi, la demande d'excitabilité pour chacune des UM peut être diminuée. Les UM les plus fatigables peuvent être recrutées seulement en cas de nécessité d'activation (lorsque la charge est plus lourde ou la durée de contraction s'élève). Cette épargne des UM contribuerait à l'amélioration de la résistance à la fatigue musculaire (pour revue, Willardson 2007, Suchomel et al. 2016).

L'entraînement en musculation avec un nombre important de répétitions, peut donc potentiellement améliorer la résistance à la fatigue. Ceci résulte principalement de l'amélioration du recrutement des fibres musculaires, et probablement de l'amélioration des capacités oxydatives des fibres musculaires.

5.4. Formes d'entraînement et natures des réponses musculaires

En fonction de la nature de l'exercice (i.e. charge, fréquence et durée de la contraction), différentes adaptations du phénotype musculaire sont induites. L'entraînement en musculation est défini par la répétition d'un mouvement qui contracte un ou plusieurs groupes musculaires avec une charge. Ce type d'exercice entraîne un recrutement rapide des fibres de type II majoritairement, et une stimulation des synthèses protéiques (Phillips 2009). Delorme et Watkins (1948), sont les premiers à révéler l'effet bénéfique de l'entraînement en musculation sur la stimulation des fonctions musculaires. Depuis, d'autres études ont mis en évidence l'efficacité de l'entraînement en musculation sur l'augmentation de la masse musculaire et de la force (pour revue, McGlory and Phillips 2015). Désormais, l'entraînement en musculation est utilisé à la fois pour des visées cliniques, afin de combattre des maladies associées à une fonte de la masse musculaire (myopénie) et à une baisse de la force (dynapénie), et à visée d'amélioration de performances athlétiques. A cet égard, différentes études ont été menées afin de déterminer le type d'entraînement en musculation propice à la majoration des synthèses protéiques, le gain de masse musculaire, de force et de puissance. La manipulation dans l'entraînement s'opère à différents niveaux, tels que :

- la charge, qui est le plus souvent décrite en pourcentage de la répétition maximale (1 RM),
- le nombre de répétition par série,
- la récupération entre les séries,
- le type de mouvement (concentrique vs excentrique),
- le volume total (i.e. charge x répétitions).

Par ailleurs, la conception de programmes d'entraînement doit, avant tout, tenir compte de la spécificité de l'activité sportive dans laquelle l'amélioration des qualités physiques est transférée (Cormie et al. 2011).

Entraînement pour améliorer l'hypertrophie et la force maximale

Afin de stimuler les gains d'hypertrophie et de force musculaire, dans le plus récent point de vue de *l'American College of Sport Medicine* (2009), le types de séances conseillées sont les suivantes :

- pour les novices et de niveau intermédiaire, des charges modérées (70-85% 1 RM), sur 8 à 12 répétitions par série, avec 3 à 6 séries par exercice, est recommandé.
- Concernant les sportifs les plus entraînés, la charge recommandée est comprise entre 70 et 100% de 1 RM, sur 1 à 12 répétitions, et 3 à 6 séries par exercice, avec une périodisation, de sorte que la majorité des entraînements soient réalisés avec un nombre de répétitions compris entre 6 et 12.
- Le temps de récupération recommandé entre les séries est de 1 à 3 minutes, en fonction de la charge utilisée (le temps de récupération croît avec la charge).
- Des exercices mono et poly-articulaires devront être intégrés au programme de musculation.
- Il est recommandé de s'entraîner au moins 6 à 8 semaines consécutives, à raison de 4 à 5 fois par semaine pour les sportifs entraînés (2 à 3 fois par semaine pour les niveaux débutants et intermédiaires).

En dépit de ce point de vue, au regard de la littérature scientifique, le programme de musculation optimal pour l'hypertrophie reste encore incertain. Dans une méta-analyse, Schoenfeld et al. (2016), concluent que la charge utilisée aurait peu d'impact sur le gain de masse musculaire, à partir du moment où le nombre de contractions musculaires est suffisamment important. Par exemple, un entraînement réalisé à 30% ou 90% de 1 RM, induit un gain de masse musculaire similaire (Mitchell et al. 2012).

En revanche, il semblerait que le volume d'entraînement soit un facteur considérable et indispensable à l'augmentation de la masse musculaire. Il est caractérisé par le produit du nombre de répétitions total lors de la séance par la charge moyenne utilisée, et son élévation est favorable à la croissance musculaire (Burd et al. 2010, McGlory and Phillips 2015, Schoenfeld et al. 2016).

La réalisation d'exercices mono ou poly-articulaire n'impacte pas différemment les gains de masse musculaire et de force. Cependant, les exercices sollicitant des masses musculaires importantes (poly-articulaires) induisent une plus forte sécrétion hormonale (Kraemer and Ratamess 2005). Parmi d'autres facteurs, cette réponse systémique serait favorable à l'hypertrophie musculaire et la production de force (Rønnestad et al. 2011, Mitchell et al. 2013). D'un point de vue pratique, des exercices sollicitant des masses musculaires importantes (i.e. squat, press, développé-couché) sont donc à intégrer dans le programme de musculation, en plus d'exercices mono-articulaires (pour revue, McGlory and Phillips 2015).

Concernant l'amélioration de la force musculaire, Mitchell et al. (2012) ont distingué un gain de force supérieur dans la condition d'entraînement à 90% de 1 RM, comparée à l'utilisation d'une charge à 30% de 1 RM. Dans une perspective de gain de force, des charges élevées sont alors préconisées, et ce particulièrement pour les athlètes bien entraînés (pour revue, McGlory and Phillips 2015).

En résumé, la variation de la charge influence peu les synthèses protéiques et le gain de masse musculaire à partir du moment où la séance comprend un nombre de répétition important (volume de travail important), avec des exercices poly-articulaires. Pour le gain de force, des charges supérieures sont jugées bénéfiques (80-90% 1 RM). Ces recommandations restent générales, et sont à adapter en fonction de l'objectif, de la discipline, du niveau d'entraînement et de l'état de forme du sportif (pour revue, McGlory and Phillips 2015).

Entraînement pour améliorer la puissance maximale

L'amélioration de la puissance d'un athlète passe par un entraînement permettant d'améliorer les qualités de force et/ou de vitesse ($\text{Puissance} = \text{Force} \times \text{Vitesse}$). Classiquement, les programmes d'entraînement visent, dans un premier temps, à améliorer la force, par les mécanismes et le type de programmes détaillés ci-dessus. Par la suite, les qualités de vitesse seront abordées, tout en maintenant un travail de force. Nous avons vu que l'entraînement en musculation ne permettait pas directement d'améliorer les qualités de vitesse, puisque le changement de typologie musculaire de type I vers le type II ne semble pas être induit par ce type d'entraînement.

Cependant, l'entraînement réalisé à différents niveaux de vitesse est susceptible d'améliorer la force spécifique à la vitesse d'entraînement (Behm and Sale 1993). Dans ce cadre, l'utilisation de charges plus légères à celles utilisées en vue d'une amélioration de la force maximale ($< 80\%$ de 1 RM), en atteignant cependant des vitesses de contraction musculaires maximales, permettrait d'améliorer la force à différentes vitesses (Moffroid and Whipple 1970). Ce type d'exercices semble également pouvoir induire des adaptations neuromusculaires plus significatives que les exercices non balistiques (Cormie et al. 2011).

Enfin, ces exercices répondent au principe de spécificité, en permettant notamment d'atteindre des vitesses plus proches de celles rencontrées dans les activités sportives, comparés aux exercices réalisés avec des charges élevées (Cormie et al. 2011). Les adaptations qu'ils induisent seront donc davantage transportables à l'activité sportive concernée.

L'entraînement en musculation réalisé avec des charges sous maximales (30-60% de 1 RM) et des vitesses de contraction maximales, améliore la capacité de production de force à des vitesses élevées. Ce type d'exercices sera donc à intégrer au programme de force (85-100% de 1 RM), dans le but d'améliorer la puissance maximale.

5.5. Hétérogénéité des réponses à l'entraînement

Des répétitions d'exercice en musculation sur plusieurs semaines d'entraînement favorisent l'hypertrophie musculaire, résultant en un gain de masse musculaire et de force (pour revue, Kraemer and Ratamess 2004). Néanmoins, la réponse hypertrophique lors d'un entraînement en musculation n'est pas linéaire. En effet, il est communément observé une grande variabilité des réponses interindividuelle en réponse à l'entraînement en musculation tant sur le gain de masse musculaire que de force (Hubal et al. 2005). Ceci a été rapporté en premier lieu en 1954, lorsque Sheldon et collaborateurs ont observé que les individus - sans que cela ne puisse être expliqué - avaient différentes habilités à gagner en masse musculaire et en force en réponse à un même entraînement. Plus tard, une étude élaborée sur une cohorte de 585 participants a évalué les réponses musculaires à un entraînement de 12 semaines sur les fléchisseurs du coude du bras non dominant (non entraîné). Ils confirment l'existence de grandes variabilités dans les réponses musculaires à l'entraînement, entre les individus. Par exemple, le gain de CSA (coupe de section transversale du muscle) du bras est en moyenne de $3,2\text{cm}^2$ pour les hommes, avec des valeurs s'étendant de $-0,4\text{cm}^2$ à $13,6\text{cm}^2$. Les variations sont également très étendues pour les femmes, allant de $-0,5\text{cm}^2$ à $7,2\text{cm}^2$, avec un gain moyen de $2,4\text{cm}^2$. L'évolution de la CSA s'étend alors de -2% à +59% en réponse à un même entraînement de musculation, réalisé sur un groupe musculaire très précis (Figure 9 ; Hubal et al. 2005).

De même, les variations de la force maximale anisométrique sont très disparates allant de 0% à 250% de gain (Hubal et al. 2005). D'autres études ont mis en évidence de grandes variabilités interindividuelles dans les réponses hypertrophiques à un entraînement en musculation de 10 semaines (Mitchell et al. 2014) et en réponses à un entraînement de 12 semaines associé à une supplémentation en protéines (Hartman et al. 2007) (Figure 10).

Hubal et al. (2005), concluent, qu'étant donné ces fortes disparités, il semble impossible de mettre en avant un seul type d'entraînement et/ou de stratégie nutritionnelle qui convienne à tous, dans l'optimisation du gain de masse musculaire et de force.

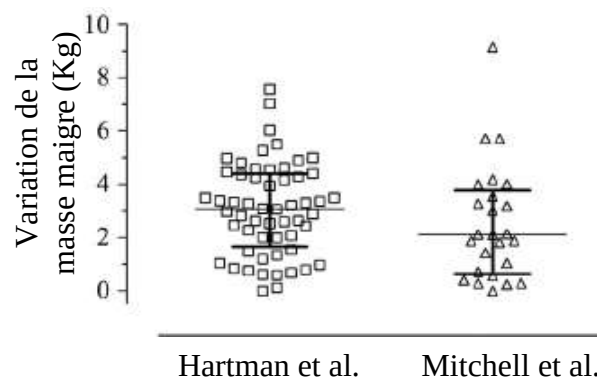


Figure 10. Variation de la masse maigre en réponse à un entraînement en musculation de 10 semaines ($n = 25$) (Mitchell et al. 2012) et de 12 semaines avec une supplémentation de lait écrémé ($n = 18$), protéines de soja ($n = 19$) et contrôle glucidique ($n = 19$) (Hartman et al. 2007). Les carrés et losanges représentent les données individuelles, la médiane et les quartiles sont représentés par les barres. (McGlory and Phillips 2015)

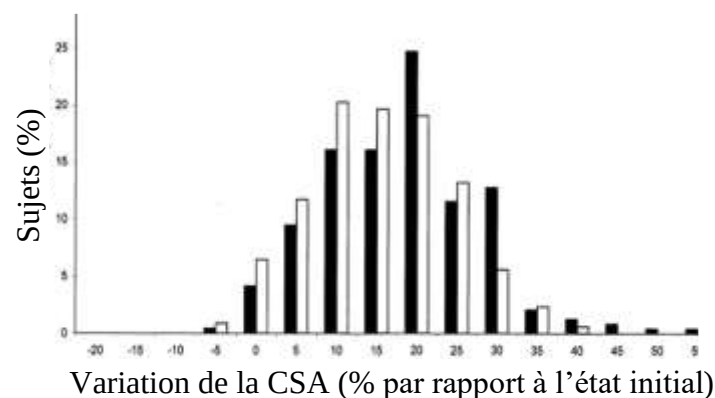


Figure 9. Histogrammes représentatifs de l'hétérogénéité dans la réponse hypertrophique à un entraînement en musculation de 12 semaines, en fonction des femmes et des hommes. Répartition des sujets (en %) en fonction de la variation de la CSA (Cross Sectional Area, % par rapport à l'état initial). Les barres blanches représentent la répartition pour les femmes, et les noires pour les hommes. (Hubal et al. 2005)

Le nombre de fibres musculaires diffère considérablement entre les individus. Par exemple, sur 9 jeunes hommes, Lexell et al. (1988) ont comptabilisé au minimum 393 000 fibres musculaires et au maximum 903 000 fibres musculaires, dans le vaste externe (cuisse). Un même muscle peut donc contenir trois fois plus de fibres musculaires chez un individu par rapport à un autre, d'âge et sexe similaire. Ces aspects physiques et morphologiques pourraient être à l'origine de cette forte hétérogénéité dans les réponses hypertrophiques à un entraînement en musculation. Comme le précise Mitchell et al. (2014), d'autres études sont nécessaires afin

de mieux comprendre les mécanismes et les facteurs qui sont potentiellement à l'origine de ces fortes disparités interindividuelles.

A partir des études évaluant les gains de masse musculaire et de force en réponse à un entraînement, un effet significatif peut être mis en évidence. Néanmoins, il y aura toujours des « bons » et « mauvais » répondeurs, pour lesquelles l'adaptation individuelle de l'entraînement est nécessaire (Mitchell et al. 2014).

La force, la puissance et la résistance à la fatigue sont des qualités physiques requises dans de nombreux sports. Pour l'ensemble de ces qualités physiques, la masse musculaire est de première importance, et constitue un des déterminants majeur dans l'amélioration des capacités physiques. L'augmentation de la masse musculaire est souvent le premier objectif de travail lors d'une phase de développement des qualités physiques, auquel sont souvent associées des séances visant à modifier les qualités contractiles et capacités oxydatives des fibres musculaires (vitesse et/ou résistance à la fatigue). La modulation de la masse musculaire est dépendante de l'activité physique qui y est associée. En cas d'entraînement en musculation adapté à l'hypertrophie (volume de travail important, exercices mobilisant des masses musculaires importantes, etc.), la masse musculaire ainsi que la force peuvent être majorées. En cas d'augmentation de la charge, la force maximale tend à être améliorée. Enfin, en cas d'utilisation de charges sous-maximales à vitesse maximale, la force à des niveaux de vitesse élevés est améliorée. Inversement, lors d'une phase d'immobilisation ou d'inactivité, le catabolisme et la fonte de la masse musculaire s'opère. Le gain ou la perte de la masse musculaire est sujet-dépendant, avec des variabilités interindividuelles extrêmement importantes en réponses à un même entraînement. **L'augmentation de la masse musculaire représente donc un facteur de performance indéniable dans de nombreux sports ; nous allons détailler les mécanismes physiologiques impliqués dans la modulation de la masse musculaire dans le chapitre suivant.**

Chapitre II – Modulation de la masse musculaire

Une masse musculaire volumineuse représente un des facteurs d'amélioration de la performance sportive. Nous abordons désormais les mécanismes physiologiques et moléculaires conduisant à l'hypertrophie ou l'atrophie musculaire.

1. Notion de balance azotée : équilibre entre les synthèses et les dégradations des protéines

1.1. Rôles des protéines et des acides aminés dans l'organisme

Certains nutriments, sont dit « indispensables » dans la mesure où l'organisme est incapable de les synthétiser en quantité suffisante pour couvrir ses besoins. Il s'agit de l'eau, de 9 acides aminés, de certains acides gras (acide linoléique et alpha-linolinique), de la plupart des vitamines (exceptées les vitamines D et K), minéraux et oligoéléments. Ces nutriments doivent, par conséquent, être apportés par l'alimentation. D'autres nutriments sont nécessaires mais « non indispensables » puisque l'organisme est capable de les synthétiser seul. Il s'agit des autres acides aminés, des autres acides gras, du glucose, du fructose et des vitamines D et K.

Rôle des protéines dans l'organisme

Parmi ces nutriments, les acides aminés sont l'unité de base constituant des protéines. Les protéines ont des rôles essentiels dans le fonctionnement de l'organisme. Elles sont, avec les lipides et les glucides, l'une des trois grandes familles de macronutriments, c'est-à-dire l'un des composants des aliments qui contribuent à l'apport énergétique.

De plus, elles jouent un rôle structural et mécanique, en participant au renouvellement des tissus musculaires, des phanères (ongles, cheveux, poils), de la matrice osseuse, de la peau, des tendons et des ligaments.

Elles sont également impliquées dans la régulation de l'homéostasie, en participant à de nombreux processus physiologiques tels que la catalyse de réactions chimiques, la signalisation intra-cellulaire, la transcription de certains gènes, le trafic trans-membranaire, la synthèse des ARN de transfert et des ribosomes, ou encore la régulation des défenses immunitaires (ANSES, 2016).

Rôle des acides aminés dans la synthèse protéique

Les protéines sont composées d'une succession linéaire et séquentielle d'acides aminés, appelées polymères d'acides aminés. La présence d'acides aminés libres dans l'organisme est indispensable, afin de permettre la traduction du message génétique (transmis sous la forme d'ARN messagers, ARNm) en protéines fonctionnelles. En outre, les protéines sont continuellement impliquées dans le renouvellement de différents tissus de l'organisme tels que les muscles, l'intestin, le foie, les reins et la peau. Dans ce cadre, la disponibilité en acides aminés libres (notamment en acides aminés essentiels) dans les tissus est un déterminant important du contrôle des flux de synthèses des protéines.

L'activation optimale des synthèses protéiques dépend de nombreux facteurs (que nous détaillerons dans ce chapitre). Parmi ces facteurs, l'absence d'état inflammatoire est primordiale. En effet, le tube digestif et l'intestin sont les premiers organes approvisionnés en acides aminés provenant des aliments. Lors d'une inflammation intestinale - étant donné que la priorité est le maintien de la santé du tube digestif - les synthèses protéiques du tube digestif sont majorées au détriment des synthèses protéiques des muscles squelettiques. Par exemple, chez le rongeur, 58% de la thréonine fût utilisée par le tube digestif lors d'une agression à ce niveau, contre 8% en temps normal (Breuille et al. 1994).

Les protéines sont les composés essentiels des cellules de l'organisme. Elles sont constituées d'une séquence d'acides aminés, synthétisée au niveau du cytoplasme de la cellule, à partir des acides aminés libres. La présence d'acides aminés libres dans l'organisme est alors indispensable au métabolisme des protéines.

1.2. Le métabolisme des protéines musculaires

Les protéines tissulaires d'un individu adulte sont en perpétuel renouvellement. On appelle « état dynamique des protéines » ce métabolisme des protéines permanent. Il est caractérisé d'un côté, par une dégradation continue et, de l'autre, par une biosynthèse permanente des protéines à partir des acides aminés libres.

Ce métabolisme fonctionne de sorte que la quantité d'acides aminés libres dans le plasma reste relativement constante (environ 70g) (Figure 11). Ainsi, lorsque des acides aminés sont disponibles en quantité supérieure (i.e. après digestion du repas), les synthèses protéiques sont majorées, avec en parallèle, une inhibition des dégradations protéiques. Dans ces conditions, la balance azotée, qui résulte de l'équilibre entre les synthèses et les dégradations des protéines, est positive (i.e. protéosynthèse > protéolyse). Inversement, en cas de mauvaise disponibilité

en acides aminés libres (i.e. période de jeûne), la dégradation des protéines est augmentée, et la protéosynthèse diminuée, résultant ainsi en une balance azotée négative (pour revue, Trommelen and van Loon 2016).

La cinétique de synthèses/dégradations des protéines a été mise en évidence par la méthode du marquage d'un acide aminé, avec un isotope stable d'un des atomes entrant dans sa composition (l'azote ou le carbone par exemple, ^{15}N ou ^{13}C). Les entrées et sorties de cet acide aminé marqué par l'isotope sont évaluées. C'est grâce à cette technique de marquage (méthode de référence), que le métabolisme des protéines a pu être étudié au cours et à la suite d'exercices physiques (Waterlow et al. 1978).

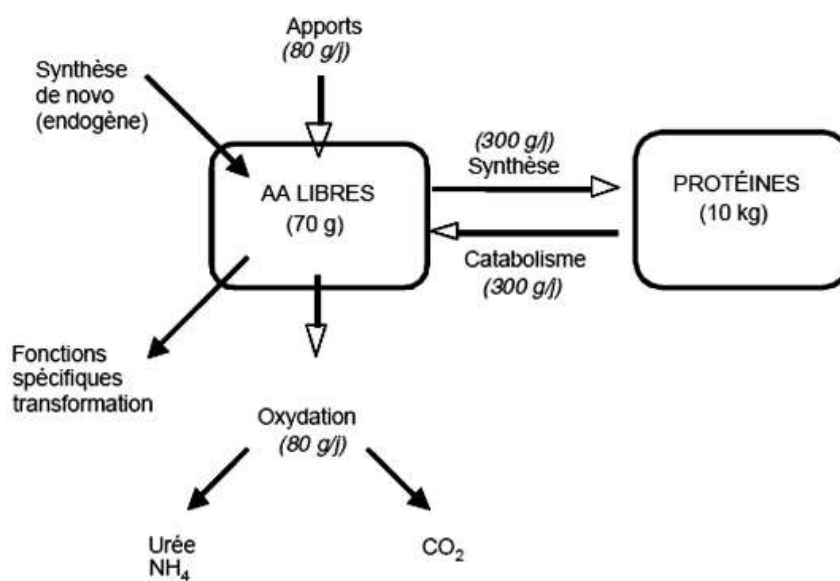


Figure 11. Schéma général du métabolisme des protéines de l'Homme sain de 70Kg.

La synthèse des protéines permet le renouvellement permanent des protéines. Elle est initiée à partir des acides aminés issus de l'alimentation ou de l'hydrolyse des protéines tissulaires. A la suite d'une multitude de réactions - que nous décrirons dans ce chapitre - la disponibilité intracellulaire en acides aminés, et surtout en acides aminés essentiels permet d'assurer la traduction des messages génétiques en protéines. Ces protéines synthétisées, permettent de remplacer des protéines préalablement lysées et/ou d'augmenter le pool de protéines musculaires.

La dégradation des protéines est également un processus important. Tout d'abord elle permet l'élimination des protéines présentant des anomalies, soit à la suite d'erreurs lors de la

traduction, soit à la suite de dommages ou de lésions subis (i.e. lors d'un stress oxydatif, ou d'un exercice en excentrique). Elle permet également le turn-over physiologique des protéines. Ce catabolisme des protéines musculaires est majoré par différents facteurs, tels que le jeûne (faible quantité d'acides aminés libres), l'exercice physique, la blessure, l'immobilisation d'un membre, le vieillissement et lors d'états pathologiques (pathologies infectieuses, états inflammatoires, états d'immobilisation prolongée, stress oxydant chronique).

En résumé, le métabolisme des protéines évolue selon la synthèse et la dégradation des protéines. Ces processus sont à l'origine du renouvellement des tissus de l'organisme, et interviennent notamment dans la modulation de la masse musculaire.

1.3. Equilibre synthèses/dégradations des protéines et régulation de la masse musculaire

La masse musculaire résulte de la balance entre les synthèses et les dégradations des protéines musculaires. Une balance synthèses/dégradations positive conduit à un état d'hypertrophie musculaire, alors qu'une balance négative se traduit par une atrophie musculaire (McGlory and Phillips 2015). Chez les individus sains, c'est l'action sur les flux de synthèses protéiques plutôt que sur la protéolyse qui influence la taille des fibres musculaires (Egan and Zierath 2013).

Au repos à jeun, le déficit énergétique se traduit par une augmentation de l'utilisation des substrats autres que le glucose, soit les acides gras et les acides aminés oxydables. Etant donné qu'aucun acide aminé n'est apporté par l'alimentation, les flux de synthèses des protéines décroient. En parallèle, l'augmentation de la disponibilité en acides aminés libres nécessite une activation prononcée de la protéolyse (Biolo et al. 1997). Dans cette situation de jeûne prolongé, la protéolyse est alors supérieure à la protéosynthèse. La balance synthèses/dégradations du muscle est donc négative, ce qui peut se traduire par une amyotrophie.

En revanche, après un exercice suivi de l'ingestion d'acides aminés, la sécrétion d'insuline (induite par l'exercice et l'ingestion des acides aminés) ainsi que la disponibilité en acides aminés, sont favorables à l'activation des synthèses protéiques et l'inhibition de la protéolyse. Au niveau musculaire, les synthèses protéiques sont supérieures aux dégradations, la balance synthèses/dégradations est donc positive, conduisant à l'accrétion des protéines musculaires (Biolo et al. 1997).

Les acides aminés sont les constituants des protéines musculaires. La présence d'acides aminés au niveau tissulaire régule directement les flux de synthèses et de dégradations des protéines. Un gain de masse musculaire est possible uniquement si les synthèses protéiques sont supérieures aux dégradations protéiques, c'est-à-dire dans le cas où le bilan synthèses/dégradations est positif sur la journée. **Les synthèses protéiques sont stimulées par différents facteurs tels que l'exercice physique, la sécrétion hormonale et les apports alimentaires.**

2. Activité physique et contrôle de la masse musculaire

L'exercice est un stimulus potentiel pour la modulation de la masse musculaire et le reconditionnement des muscles squelettiques. Nous avons vu dans le chapitre précédent quelles étaient les réponses quantitatives (masse musculaire) et qualitatives (phénotype musculaire) à un entraînement en musculation (partie 5). Le métabolisme des protéines musculaires (équilibre synthèses/dégradations) est affecté par la pratique d'un exercice isolé, et par la répétition de séances de musculation. Ces altérations du métabolisme des protéines contribuent à expliquer les réponses à l'entraînement.

Dans ce manuscrit, le terme « entraînement » sous-entend une répétition de plusieurs exercices de musculation intégrés dans un programme d'entraînement de plusieurs semaines. Le terme « exercice » désigne un exercice de musculation isolé ou unique.

2.1. Réponses du métabolisme des protéines musculaires à un exercice unique de musculation

La pratique d'un exercice de musculation (mais d'endurance aussi), se traduit par une altération de l'équilibre synthèses/dégradations des protéines musculaires. Ces altérations doivent s'envisager différemment pendant, et dans les suites de l'exercice.

Pendant l'exercice de musculation

La pratique d'un exercice de musculation affecte notablement le métabolisme des protéines. En effet, il induit un état de sidération immédiat des synthèses protéiques musculaires, associé à un accroissement de la protéolyse (pour revue, Kumar et al. 2009 ; Figure 12). La balance nette entre protéosynthèse et protéolyse - qui détermine le statut anabolique (hypertrophie) ou catabolique (atrophie) du tissu musculaire - est donc négative pendant un exercice de musculation (Burd et al. 2009). L'augmentation des dégradations des protéines

pendant l'exercice est d'origine mécanique et/ou métabolique. L'origine mécanique est fonction de l'exercice et plus particulièrement des dommages musculaires induits par cet exercice (i.e. travail excentrique, stress oxydant). Dans le cas où l'origine est métabolique, la protéolyse est augmentée afin de rendre des acides aminés disponibles au niveau plasmatique, à des fins de régulation énergétiques et d'homéostasie cellulaire.

Après l'exercice

La fin de l'exercice correspond à une augmentation des synthèses protéiques, alors que le flux de protéolyse continue à croître jusqu'à 3 à 6h après l'arrêt de l'exercice, pour finalement diminuer (Figure 12). L'augmentation de la protéosynthèse est initialement faible, puis croît intensément, environ 1h après la fin de l'exercice et ce jusqu'à 24h voir 48h après la réalisation de celui-ci (Phillips et al. 1999). La dégradation des protéines augmente d'environ 30 à 50% lors des trois premières heures de récupération après l'exercice. Même si les synthèses protéiques augmentent également d'environ 50%, la protéolyse reste supérieure aux synthèses, résultant en une balance synthèses/dégradations négative lors des trois premières heures de récupération après l'exercice (Biolo et al. 1995). Pour illustrer cette augmentation des synthèses et dégradations lors des premières heures après un exercice en musculation, Phillips et al. (1999) ont démontré l'existence d'une corrélation forte entre les synthèses et lyses des protéines musculaires, lors des 4h post-exercice ($r = 0,84$; $p < 0,01$). Les synthèses de protéines dépassent la protéolyse à partir de ~6h après l'exercice et ce jusqu'à 24h voir 48h post-exercice (Figure 12).

Dès la fin de l'exercice, l'organisme utilise les acides aminés disponibles au niveau des tissus musculaire afin d'assurer la synthèse protéique et conduire ainsi, à la restauration d'une balance synthèses/dégradations positive (Phillips et al. 1999). Après l'exercice, les besoins en acides aminés sont donc augmentés. Dans ce contexte, l'apport exogène d'acides aminés permet d'accélérer les processus anaboliques, conduisant à la restauration positive du métabolisme des protéines (Chapitre III).

En résumé, à la suite d'un exercice isolé de musculation, les synthèses protéiques sont majorées jusqu'à 24h voir 48h après celui-ci. En parallèle, la protéolyse augmente jusqu'à ~6h après l'exercice. Le but étant de maximiser les réponses musculaires à l'entraînement, nous cherchons à connaître les réponses du métabolisme des protéines à la suite d'une répétition d'exercices de musculation sur plusieurs semaines d'entraînement.

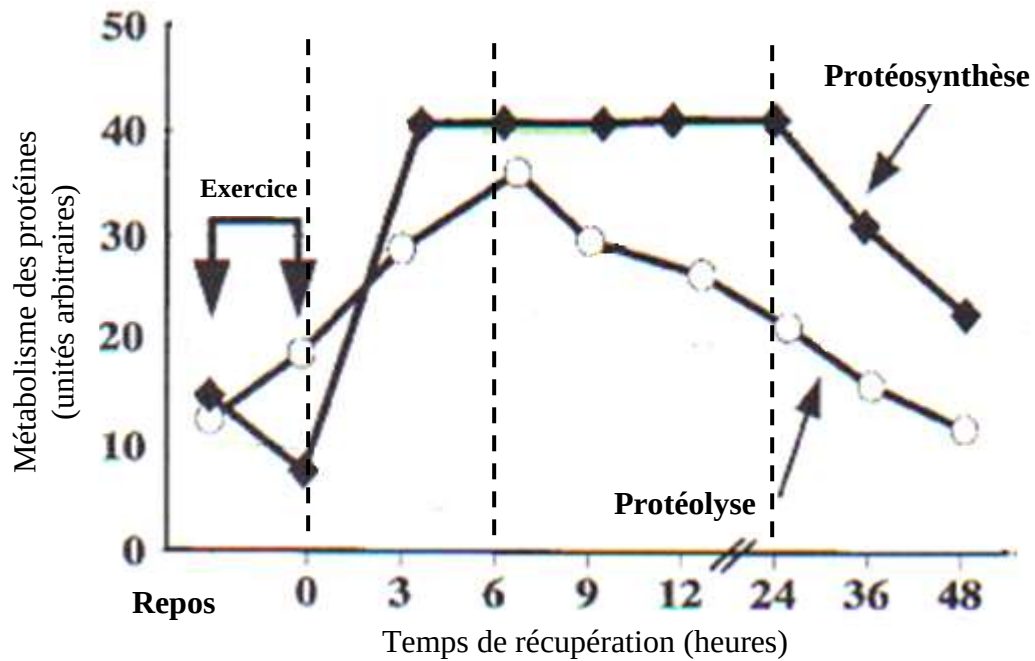


Figure 12. Cinétique des flux de protéosynthèse et de protéolyse pendant l'exercice (Exercice), et lors des 48h post-exercice. Les losanges noirs représentent les différentes mesures de la protéosynthèse, tandis que les ronds blancs symbolisent les mesures de la protéolyse. (Lemon 1998)

2.2. Réponses du métabolisme des protéines musculaires à un entraînement en musculation

Effet du niveau d'entraînement sur les synthèses protéiques au repos

Les flux de synthèses protéiques s'adaptent rapidement à la suite de plusieurs exercices de musculation répétés (Tang et al. 2008). En situation de repos, le niveau des synthèses protéiques semble être plus élevé chez les personnes entraînées en musculation comparées aux personnes sédentaires (Phillips et al. 1999, Balagopal et al. 2001). En accord avec ces données, Wilkinson et al. (2008) ont observé, au repos, un niveau de protéosynthèse, significativement supérieur à la suite d'un entraînement en musculation de 10 semaines, comparé à cette même mesure réalisée avant l'entraînement (Figure 13, encadré en rouge).

Effet du niveau d'entraînement sur les synthèses protéiques après l'exercice

Wilkinson et al. (2008) ont montré que les synthèses protéiques lors des 4h de récupération post-exercice ne sont pas modifiées par l'entraînement en musculation (Figure 13, encadré en orange). Ces résultats sont toutefois controversés dans l'étude de Tang et al. (2008), dans laquelle ils ont mis en évidence une majoration de la protéosynthèse après l'exercice en

musculature pour la jambe entraînée préalablement en musculation, comparée à la jambe non-entraînée.

Par ailleurs, la durée de la réponse des synthèses protéiques est également modulée par l'entraînement en musculation. En effet, 28h après l'exercice, le niveau des synthèses protéiques est supérieure pour le groupe non-entraîné, comparé au groupe entraîné en musculation (Tang et al. 2008, Figure 14). Il semblerait même que les synthèses protéiques reviennent à leur niveau basal (situation de repos) dès 16h après l'exercice, lorsque les individus sont entraînés en musculation (Kim et al. 2005) (Figure 14). Ces résultats tergiversent avec les données recueillies chez des sportifs non-entraînés, où les synthèses protéiques restent élevées jusqu'à 24h voir 48h après l'exercice (Phillips et al. 1997).

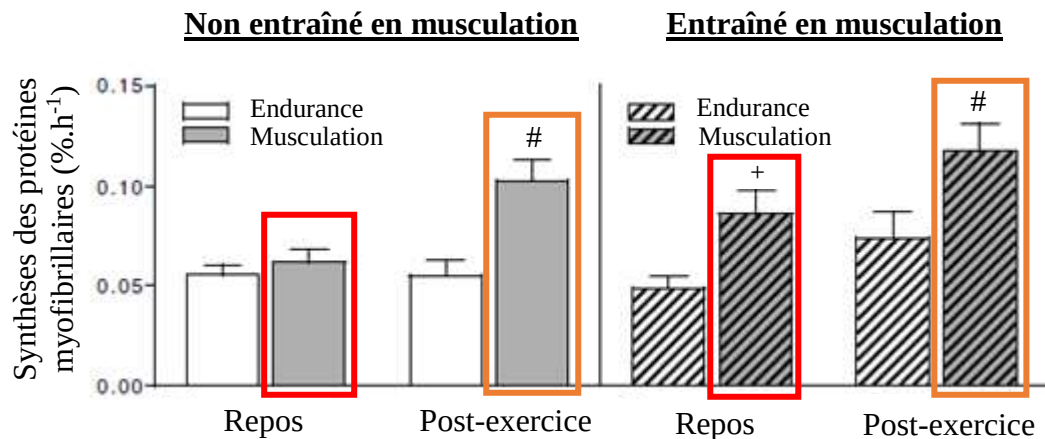


Figure 13. Flux de synthèses protéiques au repos et à la suite d'un exercice sur vélo (en blanc, exercice d'endurance) ou de leg-extension (en gris, exercice de musculation), avant (non entraîné, $n = 10$) et après (entraîné, $n = 10$) 10 semaines d'entraînement en musculation. Les valeurs représentent les pourcentages des synthèses protéiques par heure, exprimées en moyenne $\pm$ SEM. +, effet de l'entraînement, significativement différent de l'état non-entraîné. #, effet temps, significativement différent des valeurs de repos. Significativité à partir de $p < 0,05$. (Wilkinson et al. 2008)

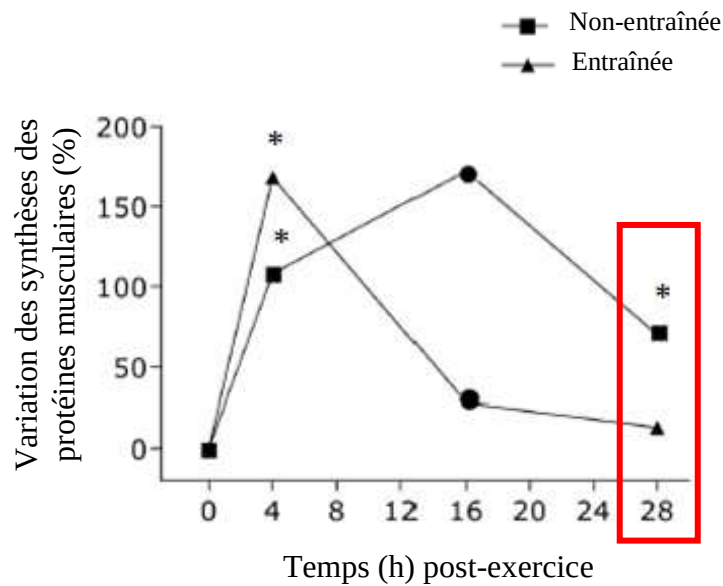


Figure 14. Variation des flux de synthèses en protéines après un exercice en musculation, pour la jambe entraînée (▲) ou non-entraînée (■) en musculation. *, significativement différent du repos. Significativité à partir de $p < 0,05$; $n = 10$. Le point à 16h (•) est extrait des résultats de l'étude de Kim et al. (2005). (Tang et al. 2008)

Effet de l'entraînement sur la protéolyse post-exercice

Par ailleurs, Phillips et al. (1999) ont comparé l'effet de l'entraînement en musculation (groupe entraîné vs groupe non entraîné) sur les réponses de la protéolyse musculaire à la suite d'un exercice de musculation. Ils ont rapporté une augmentation significative de la protéolyse lors des 4h post-exercice pour le groupe non entraîné, alors qu'elle n'est pas majorée (comparé au repos) pour le groupe entraîné en musculation (Figure 15, encadré en rouge).

En résumé, avec l'entraînement, le métabolisme des protéines est modifié. Il semblerait que les synthèses protéiques soient plus élevées au repos. Cependant, leur élévation subsiste moins longtemps après l'exercice. De plus, l'élévation de la protéolyse post-exercice, est atténuée en réponse à un entraînement en musculation de plusieurs semaines.

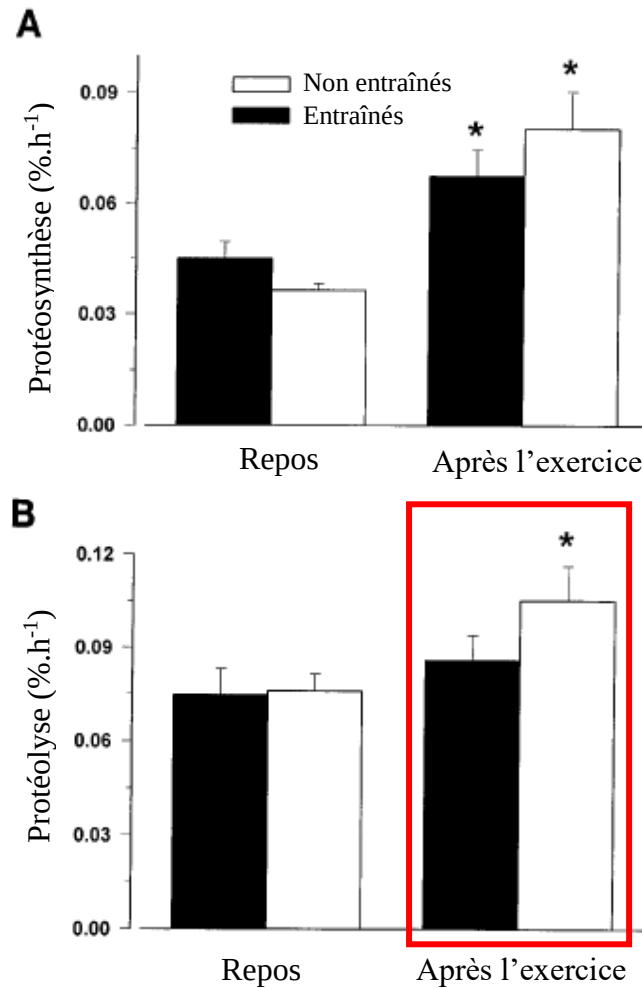


Figure 15. Flux de synthèses (A) et de dégradations (B) des protéines musculaires, au repos et à la suite d'un exercice pliométrique, pour les sujets entraînés ($n = 6$, en noir) et non-entraînés ($n = 6$, en blanc). Les valeurs représentent les pourcentages des synthèses ou dégradations protéiques par heure, au repos et après l'exercice, exprimées en moyenne $\pm$ SEM. *, significativement différent du repos. Significativité à partir de $p < 0,05$. (Phillips et al. 1999)

2.3. Relations entre l'hétérogénéité des réponses de la masse musculaire et l'équilibre synthèses/dégradations

Lien entre l'augmentation des synthèses protéiques après l'exercice et le gain de masse musculaire après l'entraînement

En réponse à un exercice unique, le flux de protéosynthèse varie considérablement en fonction des individus (Mitchell et al. 2014). En réponse à une répétition d'exercices de musculation (entraînement), les réponses hypertrophiques du muscle sont également très hétérogènes (Hubal et al. 2005, Mitchell et al. 2014). Les synthèses protéiques sont les mécanismes moléculaires permettant l'accrétion des protéines musculaires. De plus, une

balance synthèses/dégradations positive est déterminante pour l'hypertrophie musculaire. Cependant, pour un même individu, Mitchell et al. (2014) n'ont montré aucune corrélation entre l'augmentation des synthèses protéiques mesurées 6h après le premier exercice de musculation (sujets non entraînés en musculation), et l'augmentation du volume musculaire (après 16 semaines d'entraînement) ($r = 0,1$; $p > 0,05$; Figure 16). On distingue donc un manque d'uniformité dans les réponses musculaire après un exercice unique (flux de synthèses en protéines) et après une répétition d'exercices de musculation (gain de masse musculaire) pour un même individu.

Néanmoins, d'autres études ont démontré une corrélation positive entre l'activation des protéines p70S6K, rpS6 et 4EBP-1 après l'exercice - qui sont des protéines impliquées dans la voie mTOR, permettant l'activation des synthèses protéiques - et le gain de masse musculaire après l'entraînement en musculation (Terzis et al. 2008, Mayhew et al. 2009, Mitchell et al. 2013)

Mitchell et al. (2014) ont émis plusieurs hypothèses plausibles à ce manque de corrélation entre les synthèses protéiques à l'issue du premier exercice et le gain de masse musculaire en réponse à un entraînement en musculation.

Effet de l'entraînement sur les réponses musculaires à l'exercice

Tout d'abord, les synthèses et dégradations des protéines en réponse à un exercice, sont modifiées après l'entraînement en musculation (Tang et al. 2008, Wilkinson et al. 2008). Ce phénomène pourrait donc expliquer ce manque de lien observé entre les synthèses de protéines évaluées après le premier exercice de musculation et le gain de masse musculaire mesuré après l'entraînement de plusieurs semaines (Mitchell et al. 2014).

Place de la protéolyse dans le gain de masse musculaire

De plus, dans leur étude, Mitchell et al. (2014) ont uniquement mesuré les variations de la protéosynthèse à l'issue de l'exercice. Or, la masse musculaire dépend de la balance synthèses/dégradations des protéines musculaires. Les auteurs suggèrent alors que la diminution de la protéolyse post-exercice pourrait impacter le gain de masse musculaire (Mitchell et al. 2014). Certains auteurs réfutent cette hypothèse, en soulignant que les variations de la protéolyse sont 4 à 5 fois moins importantes que celles de la protéosynthèse en réponse à l'exercice et l'apport protéique (Glynn et al. 2010). En somme, il existe une corrélation forte entre l'augmentation des synthèses et des dégradations des protéines à la suite d'un exercice (Phillips et al. 1997).

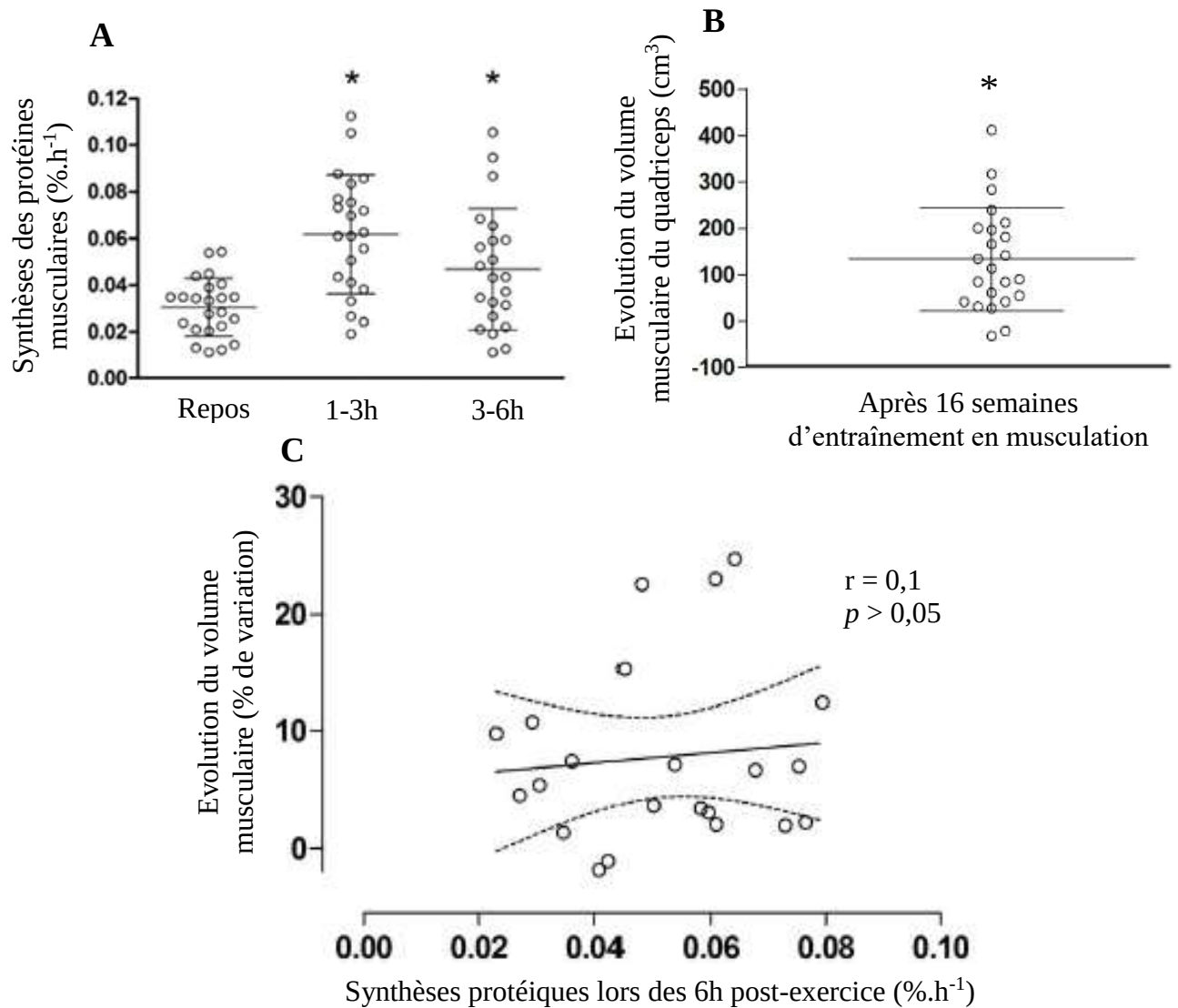


Figure 16. **A.** Evolution des flux de synthèses en protéines au repos et après un exercice en musculation pour les 23 jeunes hommes non-entraînés (1 à 3h et 3 à 6h post-exercice). *, significativement différent du repos. **B.** Evolution du volume musculaire du quadriceps après 16 semaines d'entraînement en musculation pour les 23 mêmes sujets. *, significativement différent du volume musculaire avant l'entraînement. **C.** Synthèses des protéines musculaires post-exercice, en fonction du gain de volume musculaire. Pour chacun des graphes, les ronds représentent les valeurs individuelles des 23 participants à l'étude. Significativité à partir de $p < 0,05$. (Mitchell et al. 2014)

D'autres facteurs, autres que l'exercice, régulent la protéosynthèse

La protéosynthèse et lyse des protéines sont influencées par de nombreux facteurs - dont les mécanismes seront décrits dans la partie suivante - tels que la concentration hormonale, la présence d'acides aminés au niveau tissulaire, le type d'exercice, le stress énergétique, la consommation d'alcool, l'état inflammatoire, la fatigue, etc. Dans le cadre d'un entraînement en musculation de plusieurs semaines, certains de ces facteurs peuvent impacter les réponses

hypertrophiques des muscles. En revanche, certains facteurs ne sont probablement pas pris en considération lors de la mesure de la protéosynthèse en réponse à un exercice unique de musculation (réalisé dans des conditions très standardisées de laboratoire) (Mitchell et al. 2014, McGlory and Phillips 2015).

Par exemple, l'exercice de musculation sollicitait uniquement les membres inférieurs, alors que le programme de musculation mobilisait les membres inférieurs et supérieurs (Mitchell et al. 2014). En réponse à ces deux types de séance, la stimulation des synthèses protéiques est probablement différente (Rønnestad et al. 2011).

L'augmentation des synthèses de protéines musculaires est nécessaire et indispensable au gain de masse musculaire. Cependant, la mesure des synthèses protéiques après un exercice unique de musculation, ne semble pas prédire les réponses hypertrophiques à un entraînement en musculation. D'une part, puisque les synthèses protéiques sont modifiées avec l'entraînement et d'autres parts, puisqu'il existe **de nombreux facteurs, en réponse ou non à l'exercice, susceptibles d'activer ou de réprimer la protéosynthèse.**

3. Les déterminants moléculaires de la modulation de la masse musculaire : une approche cellulaire

Comme nous l'avons vu précédemment, une balance azotée positive - où la protéosynthèse est supérieure à la protéolyse - est indispensable à l'augmentation de la masse musculaire. L'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans l'hypertrophie ou l'atrophie musculaire à la suite d'un exercice et/ou d'un apport protéique, est indispensable afin de mettre en évidence les processus fondamentaux par lesquels l'exercice physique et/ou l'apport protéique peut moduler la masse musculaire.

3.1. Le contrôle positif des synthèses protéiques

3.1.1. La voie de signalisation mTOR

La voie de signalisation mTOR (mammalian target of rapamycin) est impliquée dans la régulation de la croissance cellulaire et plus spécifiquement dans la croissance des fibres musculaires (Bodine et al. 2001, Fingar et al. 2002). Régulant les étapes clés de l'initiation de la traduction des ARN messagers (ARNm) en protéines, elle est la voie de régulation majeure des synthèses protéiques dans le tissu musculaire. Son activation est généralement à l'origine

d'une hypertrophie musculaire, alors que son inhibition s'accompagne communément d'une atrophie musculaire (pour revue, Glass 2003).

Facteurs d'activation de la voie mTOR

Elle peut être activée directement ou indirectement par de nombreux facteurs tels que la disponibilité énergétique, le statut hormonal, la disponibilité en acides aminés et l'exercice physique (pour revue, Bond 2016) (Figure 17). Les signaux biologiques transmis par ces facteurs de contrôle convergent vers la protéine mTOR. En effet, lorsque ce complexe enzymatique est bloqué, les synthèses protéiques qui sont normalement stimulées après l'exercice en musculation (Deldicque et al. 2005, Drummond et al. 2009, Phillips 2009), la consommation d'acides aminés (Deldicque et al. 2005, Dickinson et al. 2011) et l'ingestion d'IGF-1 (Rommel et al. 2001) sont inhibées.

Cette protéine kinase entre dans la composition de deux complexes de régulation biologique, mTOR Complex 1 (mTORC1) et mTOR Complex 2 (mTORC2) (Marcotte et al. 2015). Le complexe impliqué dans le contrôle de la masse musculaire est mTORC1 et non mTORC2 (Adegoke et al. 2012).

Mécanismes d'activation de la voie mTOR

Les principaux facteurs de croissance, IGF-1 ou les facteurs mécaniques liés à la contraction musculaire, activent PI3K (phosphoinositide 3-kinase), qui à son tour, active des kinases-cibles impliquées dans la croissance cellulaire. Par exemple, la kinase Akt (ou protéine-kinase B, PKB) est une des cibles directes de PI3K. Une fois activée, Akt inhibe l'activité de TSC1 et TSC2 (tuberous sclerosis complex). Or, le complexe TSC (TSC1/TSC2) est un régulateur négatif de mTOR (Inoki et al. 2002). La phosphorylation d'Akt inhibe l'activité de la protéine GAP (guanosine activating protein), permettant à la protéine Rheb (Ras homologue enriched in brain) d'être activée dans sa forme liée à une GTP (guanosine triphosphate protein). Rheb liée à GTP, active alors mTOR (Inoki et al. 2002). Une surexpression de Rheb induit une augmentation de l'activité de mTOR, résultant en une augmentation des synthèses protéiques et une hypertrophie musculaire (Goodman et al. 2011). Cette voie de signalisation PI3K-Akt/PKB-TSC1/2-Rheb-mTOR est suffisante et nécessaire pour induire l'hypertrophie musculaire, en partie par l'augmentation des synthèses des protéines (pour revue, Miyazaki and Esser 2009 ; Figure 17).

Outre la voie PI3K/Akt/mTOR, mTOR peut être activée par l'augmentation de la disponibilité en acides aminés et/ou l'exercice de musculation (pour revues, Deldicque et al. 2005, McCarthy and Esser 2010). En effet, à la suite d'un exercice en excentrique, mTOR est activée par l'intermédiaire de la synthèse de Phospholipase D (PLD), à travers son métabolite, l'acide phosphatidique (PA). En se liant à Rheb, PLD1 est alors capable d'activer Rheb-GTP, conduisant ainsi, à l'activation de mTORC1 (pour revue, Miyazaki and Esser 2009 ; Figure 17).

La présence d'acides aminés en quantité importante permet également d'activer la voie mTOR, et ce indépendamment de la cascade de phosphorylation PI3K/Akt/mTOR. En effet, en présence d'acides aminés, et particulièrement de leucine, la voie mTOR est activée par l'intermédiaire de plusieurs kinases comme, par exemple, les protéines Vps34 (vacuolar protein sorting 34), Rag GTPase (Small G Protein Rag) et MAP4K3 (mitogen-activating protein kinase-3). Après un exercice de musculation, une augmentation significative de l'activité de Vps34 est notable, dans les muscles squelettiques. Ceci résulte probablement de l'augmentation de leucine intramusculaire après l'exercice (majoré par l'oxydation des protéines pendant l'exercice) (Miyazaki and Esser 2009 ; Figure 17). Par ailleurs, indépendamment de l'activation de Vps34, la signalisation des acides aminés dans l'activation de la voie mTORC1 n'est possible que par l'intermédiaire de la kinase Rag GTPase et/ou de MAP4K3 (Dodd and Tee 2012 ; Figure 18).

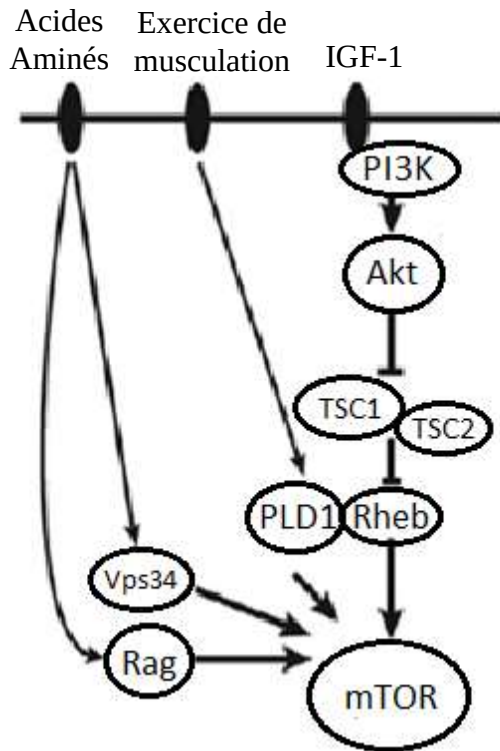


Figure 17. La régulation de la voie mTOR par les stimuli extérieurs tels que l'apport d'acides aminés, l'exercice de musculation et IGF-1. PI3K : phosphoinositide 3-kinase ; Akt : Protein Kinase B ; TSC : tuberous sclerosis complex ; PLD : Phospholipide D ; Rheb : Ras homologue enriched in brain ; Vps : vacuolar protein sorting ; Rag : Recombination Activating Gene. (Miyazaki and Esser 2009)

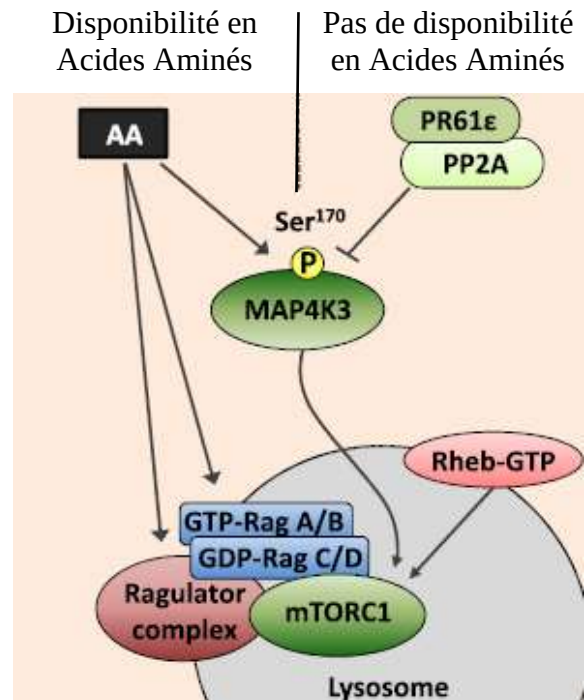


Figure 18. Signalisation des acides aminés par la kinase MAP4K3 et Rag GTPase. AA : Acides aminés ; MAP4K3 : mitogen-activating protein kinase-3 ; GTP : Small G Protein ; mTORC1 : mammalian target of rapamycin complex 1. (Dodd and Tee 2012)

Activation des synthèses protéiques par mTOR

Lorsque la kinase mTORC1 est activée, il s'ensuit une augmentation de la protéosynthèse, favorable à l'accrétion des protéines musculaires. La transmission du signal anabolique lié à l'activation de mTOR, vers les acteurs du contrôle des synthèses protéiques passe par différentes étapes. Les deux principales cibles de mTORC1, dans l'initiation de la traduction des ARNm en protéines, sont 4E-BP1 (Eukaryotic initiation factor 4E Binding Protein) et p70S6K1 (ribosomal S6 kinase) (pour revue, Deldicque et al. 2005).

La phosphorylation de 4E-BP1 par mTOR permet de dissocier 4E-BP1 de eIF4E. Une fois libéré, eIF4E conduit à la liaison de eIF4A et eIF4E avec eIF4G, pour former le complexe eIF4F. Ce dernier complexe représente la première étape pour la traduction des ARNm (Egan and Zierath 2013). A l'origine, 4EBP1 réprime la traduction des ARNm. Ainsi, la

phosphorylation de 4EBP1 permet, *in fine*, l'activation du ribosome et ainsi l'élévation de la protéosynthèse.

De plus, mTOR active p70S6K par phosphorylation. Une fois activé, p70S6K phosphoryle la protéine ribosomale S6 de la sous-unité 40S, conduisant à la traduction d'ARNm en protéines. Il s'agit donc de la première étape d'initiation à la traduction, en présence de facteurs favorisant la croissance cellulaire (Pallet et al. 2006).

En récupération d'un exercice de musculation, mTOR n'est plus inhibé par AMPK (comme c'est le cas pendant l'exercice, voir partie 3.2.1), et phosphoryle alors p70S6K, 4EBP1 et eIF4G. Ceci conduit à la stimulation des synthèses protéiques et donc l'accrétion des protéines musculaires après l'exercice (pour revue, Deldicque et al. 2005).

L'activation de la voie de signalisation mTORC1 est donc essentielle à l'initiation des synthèses de protéines musculaires, et à l'augmentation de la masse musculaire squelettique (Goodman et al. 2011). La voie mTOR est inhibée pendant l'exercice, mais est activée après l'exercice, par la présence d'acides aminés et de facteurs de croissances.

3.1.2. La voie de signalisation ERK

Activation des synthèses protéiques par l'intermédiaire de mTOR

La voie de signalisation extracellulaire régulant la kinase 1/2 (ERK1/2) est impliquée dans la régulation des synthèses de protéines (Figure 19). Une fois activée par des facteurs stimulants tels que la contraction musculaire, la présence d'acides aminés et/ou d'insuline, ERK1/2 agit directement sur l'amplification de l'activation de la voie mTOR en inhibant le complexe TSC2 (Ma and Quirion 2005).

Activation des synthèses protéiques indépendamment de mTOR

A la suite de l'exercice, le complexe ERK1/2 peut également activer les synthèses protéiques indépendamment de mTOR. Ces mécanismes passent par la stimulation de la protéine ribosomale S6 kinase p90 (RSK1). Celle-ci active, alors, la protéine ribosomale S6 (rpS6), impliquée directement dans l'initiation de la traduction des protéines (pour revue, Drummond et al. 2009).

En réponse à l'exercice, ERK1/2 active également MNK1 (MAP kinase-interacting kinase 1), qui stimule directement eIF4E, induisant la formation du complexe eIF4F et ainsi l'initiation à la traduction des ARNm en protéines. Drummond et al. (2009) ont décrit la

phosphorylation et l'activation de ERK1/2 et MNK1 pendant la période de récupération après l'exercice. En effet, la stimulation maximale des synthèses protéiques lors de la récupération post-exercice, nécessite une activation simultanée des voies de signalisation de mTOR et ERK1/2 (pour revue, Drummond et al. 2009). Ces résultats ne sont pas confirmés par toutes les études, probablement à cause de l'utilisation de protocoles hétérogènes lors de l'étude de la physiologie et de la biochimie de l'exercice (Creer et al. 2005).

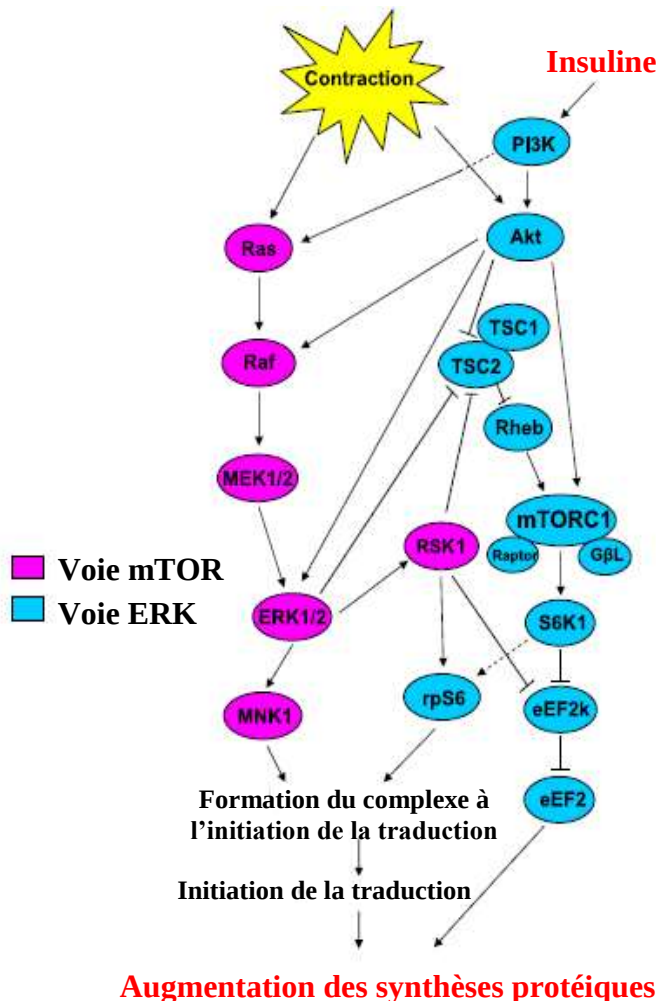


Figure 19. La voie de signalisation ERK et son implication dans la régulation des synthèses protéiques. La voie de signalisation mTOR est en bleue, et la voie de signalisation ERK1/2 est représentée en violet. MEK1/2, mitogen-activated protein kinase kinase-1/2 ; ERK1/2, extracellular signal-regulated kinase-1/2, MNK, MAP kinase-interacting kinase 1 ; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase ; RSK1, p90 ribosomal protein S6 kinase. (Drummond et al. 2009)

Si, dans tous les cas, les études chez l'Homme démontrent l'importance de l'activation de la voie mTORC1 dans l'augmentation des synthèses protéiques après un exercice, le rôle joué par la signalisation ERK1/2 reste encore à élucider.

En résumé, les synthèses protéiques sont initiées par l'activation de la voie mTOR principalement, ainsi que par la voie ERK. L'activation de la voie mTOR est cruciale pour l'hypertrophie musculaire (Bodine et al. 2001). En réponse à des facteurs favorables à l'anabolisme musculaire, tels que la présence d'acides aminés, l'exercice, les facteurs de croissances et l'insuline, ces voies de signalisation PI3K-Akt-mTOR et ERK-MNK sont potentiellement activées et convergent vers l'augmentation de la protéosynthèse. La voie mTOR est activée en récupération d'exercices de musculation, ce qui permet de promouvoir l'accrétion des protéines après l'exercice. Cependant, elle est inhibée pendant l'exercice. Les mécanismes impliqués dans l'inhibition de la voie mTOR sont décrits dans la partie suivant.

3.2. Le contrôle négatif des synthèses protéiques

Il existe des facteurs de régulation négatifs de la voie mTOR, tels que l'AMPK, REDD1/REDD2 et BNIP-3, qui sont activés lors d'un stress exogène, nécessitant l'inhibition des synthèses de protéines.

3.2.1. AMPK

5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) est un complexe enzymatique fondamental pour le bon fonctionnement des cellules. Sensible à la disponibilité énergétique, l'AMPK est activée lorsque le rapport entre AMP et ATP est élevé, autrement dit en condition de stress énergétique (i.e. jeûne, exercice prolongé ou dysfonction mitochondriale). En réponse à ce signal, l'AMPK activée, induit l'inhibition des processus anaboliques demandant beaucoup d'énergie (i.e. synthèses de protéines). Cette protéine kinase agit en activant TSC2, dont le résultat est l'inhibition de Rheb et par conséquent mTOR (Figure 20).

Ce mécanisme est activé en cas de déficit énergétique, dans le but de préserver l'énergie pour les fonctions vitales de l'organisme (Miyazaki and Esser 2009). Ainsi, pendant l'exercice ou le jeûne, l'AMPK activée, inhibe mTOR. Cette inhibition de mTOR induit la baisse des synthèses protéiques pendant l'exercice ou en état de jeûne (pour revue, Deldicque et al. 2005)

3.2.2. REDD1/REDD2

REDD1 et REDD2, appelés *Regulated in development and DNA damage*, sont deux facteurs négatifs (inhibiteurs) de la voie mTOR. Ils sont activés en réponse à un stress, tels que le déficit énergétique, l'inactivité, l'hypoxie, l'intoxication aigue et chronique d'alcool. L'activation de REDD1/REDD2 induit la phosphorylation de TSC2 (le complexe TSC1/TSC2

reste lié), inhibant par conséquent l'expression de Rheb. mTOR est alors inactivé, résultant en une baisse des synthèses protéiques (pour revue, Gordon et al. 2013).

Une surexpression de REDD1/REDD2 est accompagnée d'une atrophie musculaire, tandis que qu'une dégradation rapide de REDD1 dans les muscles est associée à une élévation de l'activation de mTOR chez les rongeurs (Gordon et al. 2013).

REDD1/REDD2 sont donc impliqués dans la régulation de la taille des muscles squelettiques, en inhibant mTOR pendant l'exercice ou en cas de déficit énergétique.

3.2.3. BNIP-3

En réponse à l'hypoxie (manque d'oxygène), la protéine BNIP-3 (Adenovirus E1B 19kDa-interacting protein 3) est activée au même titre que REDD1. Elle agit également en tant que régulateur négatif de la voie mTOR et inhibe, par conséquent, les synthèses protéiques en cas d'hypoxie. BNIP-3 activée, diminue la capacité de Rheb à activer mTOR, passant également par la phosphorylation du complexe TSC1/TSC2.

Après un exercice réalisé en hypoxie, l'expression des protéines BNIP-3 est augmentée, ce qui pourrait retarder les processus anaboliques de récupération post-exercice (Chaillou et al. 2012).

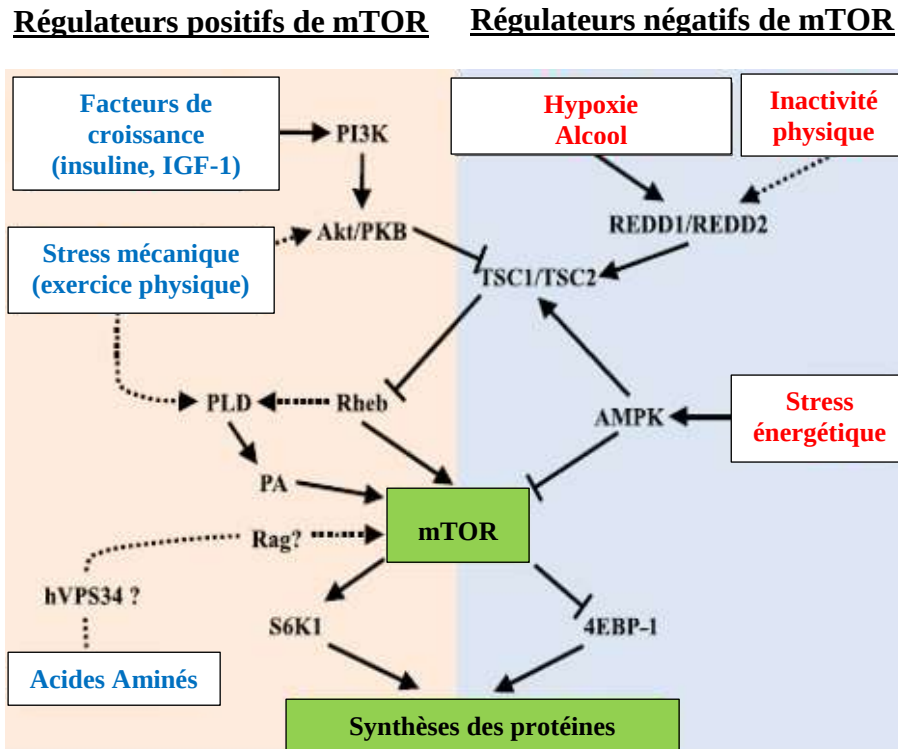


Figure 20. Schéma bilan des facteurs positifs et négatifs qui contribuent à la régulation de mTOR et des synthèses protéiques. Les facteurs positifs de la voie mTOR tels que les facteurs de croissances, l'exercice, la disponibilité en acides aminés, sont en bleus ; les facteurs négatifs tels que le déficit énergétique, l'hypoxie, l'inactivité, sont en rouge. (Miyazaki and Esser 2009)

En résumé, mTOR est la voie de signalisation principale impliquée dans l'hypertrophie musculaire. Plusieurs facteurs permettent son activation, tels que des facteurs de croissance (IGF-1), des hormones, l'exercice physique et la disponibilité en acides aminés. Ces régulateurs positifs de la voie mTOR activent cette protéine centrale, par l'intermédiaire de différentes étapes, pour résulter *in fine* à l'augmentation des synthèses protéiques. Après l'exercice, mTOR est activée, stimulant ainsi la protéosynthèse, afin de promouvoir l'accrétion des protéines musculaires en récupération. Inversement, certains facteurs exo-cellulaires impactent négativement la voie de signalisation mTOR. Il s'agit du stress énergétique, de l'hypoxie, de l'alcool ou de l'inactivité. Par l'intermédiaire de l'activation de molécules telles que REDD1/REDD2 et/ou BNIP-3 (régulateurs négatifs de mTOR), ces facteurs inhibent l'activité de mTOR, limitant ainsi l'augmentation de la protéosynthèse. Par ailleurs, en réponse à un déficit énergétique ou pendant l'exercice, l'AMPK (activée) inhibe directement mTOR et donc l'activité traductionnelle des protéines conduisant à la synthèse des protéines (pour revues, Miyazaki and Esser 2009, Goodman et al. 2011). **Les muscles sont en perpétuel renouvellement. Ils dépendent donc d'une part de la protéosynthèse, et d'autre part de la protéolyse. Nous allons détailler, dans la partie suivante, les différents mécanismes contrôlant la protéolyse musculaire.**

3.3. Le contrôle de la protéolyse musculaire

Il existe deux systèmes majeurs protéolytiques, le système Ubiquitine/Proteasome (UPS) et le système autophagique/lysosomal. L'ubiquitine est un peptide court qui peut se lier à une protéine cible. Une fois lié au substrat, un deuxième ubiquitine se lie au premier, puis un troisième jusqu'à la formation d'une chaîne de polyubiquitination. Celle-ci représente le signal déclencheur de la dégradation de la protéine marquée par ubiquitination. Le protéasome 26S dégrade ensuite la protéine ubiquitinée. Cette ubiquitination puis dégradation par le protéasome n'est possible qu'en présence de trois enzymes, E1, E2 et E3.

Le système autophagique ou « self-eating » est différent. Dans ce dernier, la cellule cible « s'autolyse ». Seule la membrane de la cellule n'est pas dégradée. Le lysosome, par son pH acide, dégrade ensuite les résidus de l'autophagie (membrane cellulaire). Différents facteurs et mécanismes tels que l'inhibition de la voie mTOR, FoxO, AMPK et la myostatine, sont impliqués dans l'activation de la dégradation des protéines musculaires.

3.3.1. Inhibition de mTORC1

Tout d'abord, l'inhibition de mTOR joue un rôle dans la dégradation des protéines par le mécanisme d'autophagie. Au niveau cellulaire, lorsque mTORC1 est inhibé - à la suite du jeûne (privation d'acides aminés) ou pendant l'exercice - l'autophagie augmente. Inversement, en condition de bonne disponibilité en acides aminés et en énergie, l'activation de mTORC1 inhibe l'autophagie (Ravikumar et al. 2010). En situation de jeûne ou pendant l'exercice, la protéolyse est majorée. Ces observations biochimiques (i.e. augmentation de l'autophagie) sont donc en accord avec les réponses physiologiques observées au niveau des fibres musculaires en situation de jeûne ou pendant l'exercice (augmentation de la protéolyse).

L'activation de l'autophagie par l'inhibition de mTOR, résulterait de l'activation de deux protéines clés impliquées dans l'initiation de la formation d'autophagosomes : Atg13 (autophagie gene 13) et ULK1 (UNC-51 like kinase) (Jung et al. 2010).

Cependant, l'inhibition de mTORC1 entraîne une petite augmentation de la protéolyse par le lysosome, de l'ordre de ~10% (Zhao et al. 2007). Par ailleurs, *in vivo*, Mammucari et al. (2007), ont montré que le blocage de mTORC1 n'est pas suffisant pour induire la formation d'autophagosomes.

En résumé, pendant l'exercice, l'inhibition de mTOR participe - bien qu'à faible degré - à l'activation de l'autophagie. Inversement, après l'exercice, l'activation de mTOR réduit

l'activité de l'autophagie. En l'état actuel des connaissances, nous savons que l'inhibition de mTOR participe, en partie, à l'activation du système d'autophagie, mais il apparaît clairement que d'autres mécanismes sont impliqués dans la régulation de la protéolyse (pour revue, Jacobs et al. 2014).

3.3.2. Activation de FoxO

FoxO (Forkhead box containing protein O-subclass) est une classe de facteurs de transcription impliqués dans la régulation du métabolisme, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, la tolérance au stress et la longévité (Greer and Brunet 2005).

Une surexpression du gène de FoxO est retrouvée dans de nombreux modèles d'atrophie musculaire (Sandri et al. 2004). De plus, la surexpression transgénique du gène FoxO est associée à une baisse de la masse musculaire (Lecker et al. 2006), alors que le blocage de l'expression génique de FoxO conduit à l'augmentation de la masse musculaire (Liu et al. 2007). Enfin, la surexpression de FoxO seule est suffisante pour induire une atrophie musculaire (Sandri et al. 2004, Zhao et al. 2007). Ces résultats témoignent de l'implication importante de FoxO dans la régulation de la protéolyse et/ou de la synthèse protéique, qui conduisent à l'atrophie musculaire.

Facteurs et mécanismes d'activation de FoxO

En présence d'insuline et/ou de facteurs de croissance, Akt est activée et phosphoryle le facteur de transcription FoxO. FoxO phosphorylé est déplacé du noyau vers le cytoplasme dans sa forme inactive. Dans ces conditions, les synthèses protéiques sont majorées.

A contrario, en l'absence d'insuline et/ou de facteurs de croissance (Akt inactive), le facteur de transcription FoxO se retrouve dans sa forme active, localisé au niveau du noyau cellulaire. Dans ces conditions, le gène FoxO est transcrit en ARNm, donnant lieu à la traduction de nombreux gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose (Greer and Brunet 2005).

Mécanismes d'action de FoxO

Les facteurs de transcription FoxO sont impliqués dans la régulation des deux systèmes majeures de la protéolyse des muscles squelettiques, à savoir le système UPS et le système autophagie/lysosomale (Mitch and Goldberg 1996). En effet, l'expression de FoxO active Atrogin 1. Elle est la protéine qui déclenche l'autophagie, par sa capacité à fermer l'autophagosome (système de « closure ») avec la protéine cible à l'intérieur du lysosome, conduisant

ainsi à la dégradation de celle-ci. De plus, FoxO active MURF1 (MUscle Ring Finger), une protéine impliquée dans le désassemblage des filaments épais des protéines myofibrillaires. Cette étape est indispensable dans la reconnaissance de la protéine cible par le système ubiquitine/protéasome, permettant ainsi d'initier l'ubiquitination. La poly-ubiquitination des protéines cibles est donc induite par l'activation d'Atrogin 1 et de MURF1. La protéine marquée est conduite vers le protéasome 26S qui dégrade la protéine (pour revue, Goodman et al. 2011).

FoxO est donc le facteur déterminant permettant d'activer l'expression des protéines impliquées dans l'initiation et la terminaison de l'UPS. Au niveau cellulaire, le système UPS est responsable de la majeure partie de la dégradation des protéines myofibrillaires *in vivo* (Lecker et al. 2006).

En résumé, FoxO joue un rôle majeur dans la régulation de la protéolyse, à la fois par le système dépendant de l'ubiquitine/protéasome et de l'autophagie/lysosome. FoxO est indéniablement impliqué dans la régulation de la masse musculaire. A l'origine, FoxO est activé par l'AMPK à la suite d'un déficit énergétique. L'AMPK joue également un rôle essentiel dans la régulation de la protéolyse.

3.2.3. Activation de l'AMPK

L'AMPK est activée en cas de déficit énergétique. En plus d'inhiber la synthèse protéiques (Partie 3.2), l'AMPK stimule les filières métaboliques de production d'énergie, dont celles utilisant certains acides aminés (pour revue, Steinberg and Kemp 2009).

Le blocage du gène de l'AMPK stimule l'hypertrophie musculaire *in vivo* et *in vitro* (Aguilar et al. 2007, Steinberg and Kemp 2009). Inversement, l'activation de l'AMPK avec AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside, molécule permettant d'activer l'AMPK) s'accompagne d'une augmentation de la dégradation des protéines, par le biais de l'activation d'Atrogin 1 et de MURF1 (Krawiec et al. 2007, Nystrom and Lang 2008), conduisant alors à l'atrophie des myotubes (Aguilar et al. 2007).

Lors de l'exercice, l'AMPK activée, stimule la protéolyse. L'objectif de ce processus moléculaire, est de fournir de l'énergie, par l'oxydation des acides aminés, en cas de manque de glucose. Dans ce contexte, AICAR est référencé dans la liste des produits dopants, puisqu'il peut améliorer la performance en endurance, en augmentant la protéolyse et donc la fourniture d'énergie, sous forme acides aminés, pendant l'exercice (Thevis and Schanzer 2016).

Mécanismes d'action de l'AMPK

L'AMPK active directement FoxO. Celui-ci stimule soit le système autophagie/lysosomale, soit l'expression d'Atrogin et de MURF1, afin d'initier la protéolyse par le système UPS. Ainsi, par un système dépendant de l'activation de FoxO, l'AMPK majore la protéolyse (pour revue, Goodman et al. 2011).

Par ailleurs, l'AMPK serait également impliquée dans la régulation de la protéolyse par le système d'autophagie, indépendamment de FoxO. En effet, il semblerait que l'AMPK puisse directement phosphoryler et activer ULK1 (UNC-51 Like Kinase), qui initie la formation du complexe ULK1/Atg13, impliqué dans la formation d'autophagosomes (pour revue, Goodman et al. 2011).

L'AMPK favorise le catabolisme musculaire, dans le but de fournir l'énergie nécessaire à la survie cellulaire. Il est très probable que l'AMPK exerce cet effet en régulant à la fois la synthèse et la dégradation des protéines (pour revue, Steinberg and Kemp 2009). Pendant l'exercice de musculation, l'AMPK activée est responsable de l'augmentation de la protéolyse.

3.2.4. Activation de la myostatine

La myostatine appartient à la superfamille des facteurs de croissance TGF- β . Lorsque l'expression génique de la myostatine est bloquée, un gain de masse musculaire important est visible tant chez l'Homme que sur le modèle animal (Figure 21).



Figure 21. Effet sur le volume musculaire, d'une mutation génétique de la myostatine chez le bébé humain âgé de 7 mois, la vache de race Blanc Bleu Belge (BBB), et les souris expérimentales *Myo*^{-/-} (de gauche à droite).

La myostatine active Smad2/3, qui inhibe Akt. Ceci participe alors à la diminution des synthèses protéiques. La myostatine est donc un régulateur négatif de la protéosynthèse.

En outre, la myostatine est également impliquée dans la déphosphorylation de FoxO. A cet état, FoxO activé, traverse - par translocation - la membrane nucléaire pour se retrouver à l'intérieur du noyau et activer, sous cette forme, la protéolyse. Une surexpression de la myostatine s'accompagne d'une augmentation de la transcription d'atrogin et de MURF-1, alors que son inhibition produit l'effet inverse, où FoxO est phosphorylé et donc inactif (White 2016). En général, l'expression des ARNm de la myostatine est inhibée après l'exercice en musculation (pour revue, Allen et al. 2011).

La myostatine est donc à la fois un régulateur négatif de la protéosynthèse et un activateur de la protéolyse. Par ces mécanismes, la myostatine joue donc un rôle dans le contrôle de la taille des fibres musculaires (Kim et al. 2005).

Le contrôle de la masse musculaire est régulé simultanément et de manière concomitante par la synthèse et la dégradation des protéines. L'augmentation de la protéosynthèse est principalement le résultat de l'activation de la voie de signalisation Akt/mTOR. La dégradation des protéines est principalement médiée par le contrôle de l'AMPK et des facteurs de transcription FoxO (transcription et activation par phosphorylation). Ces voies sont régulées, au niveau cellulaire, par des facteurs exogènes stimulant l'anabolisme musculaire (i.e. acides aminés, disponibilité énergétique, contractions musculaires, IGF-1, etc.) et/ou le catabolisme musculaire (i.e. carences en acides aminés, déficit énergétique, inactivité, etc.). A la suite d'un exercice de musculation, l'élévation des synthèses protéiques (induite par l'activation de la voie mTOR) est accompagnée d'une augmentation de la concentration hormonale. **Dans ce contexte, nous pouvons donc nous demander si les hormones sécrétées, jouent un rôle dans la majoration de la protéosynthèse et donc potentiellement, dans l'hypertrophie musculaire.**

4. Les déterminants hormonaux de la modulation de la masse musculaire : une approche systémique

L'exercice de musculation, peut influencer la sécrétion de plusieurs hormones telles que l'insuline-like growth factor (IGF)-1, la testostérone et l'hormone de croissance (GH). En général ces concentrations hormonales augmentent après la réalisation d'un exercice à visée hypertrophique (i.e. 60-80% de 1 RM avec de faibles temps de récupérations entre les séries, 60 à 90 secondes, et un volume de travail important), comparées à des exercices qui ont pour objectif de développer la force maximale (i.e. charge élevée avec peu de répétitions) (Kraemer and Ratamess 2004). L'augmentation de signaux de stress métaboliques induits par l'exercice - tels que l'accumulation de métabolites (lactate, Pi), la réduction du pH, l'augmentation

d'EROs (Espèces Réactives de l'Oxygène), l'effet de l'hypoxie et de la diminution du flux sanguin - augmentent le niveau de sécrétion hormonal (Takano et al. 2005, Fujita et al. 2007). Ceci justifie la plus forte sécrétion hormonale suite à des exercices induisant une fatigue musculaire. Nous allons décrire dans cette partie, les différentes hormones susceptibles d'impacter la réponse hypertrophique du muscle.

4.1. Hypertrophie via la signalisation d'IGF-1

L'insuline-like growth factor 1 (IGF-1) est une hormone peptidique hydrophobe, stockée dans des granules qui éclatent par exocytose. L'exercice physique est le principal acteur sécrétoire d'IGF-1, et la majorité de la sécrétion d'IGF-1 est captée par les fibres musculaires (Brahm et al. 1997).

Implication d'IGF-1 dans l'hypertrophie musculaire

Musaro et al. (2001) ont montré que des souris génétiquement modifiées - caractérisées par une surexpression d'IGF-1 - présentent une masse musculaire deux fois supérieure à celle de souris contrôles. Le lien entre la sécrétion d'IGF-1 et l'hypertrophie musculaire a également été mis en évidence dans une étude réalisée chez l'humain. A la suite d'un programme de musculation des extenseurs du genou de 16 semaines, les 66 participants à cette étude ont été répartis selon trois groupes : le groupe des très bons répondeurs (+58% en moyenne de gain hypertrophique), le groupe des bons répondeurs (+28%) et le groupe des non-répondeurs (pas d'augmentation de l'hypertrophie des fibres musculaires). Les bons répondeurs ont augmenté leur taux d'IGF-1 jusqu'à 126% comparé à l'état de repos, alors que les non-répondeurs ont des taux hormonaux relativement stables, similaires à ceux observés en situation de repos (West and Phillips 2012).

Cependant, une concentration d'IGF-1 majorée, n'est pas toujours corrélée avec l'augmentation des synthèses protéiques, ni avec l'augmentation de la masse musculaire (Mitchell et al. 2013). IGF-1 ne serait donc pas le seul acteur hormonal impliqué dans l'hypertrophie musculaire en réponse à l'entraînement (pour revue, Mitchell et al. 2013, Schoenfeld 2013).

Mécanismes d'action d'IGF-1 dans l'induction de l'hypertrophie musculaire

IGF-1 active les récepteurs à IGF-1 (IGFR), qui recrutent, en conséquence, le récepteur à l'insuline, appelé *Insuline Receptor Substrate* (IRS-1). Dès lors, IRS-1 active deux voies de signalisation : la voie Ras-Raf-MEK-ERK et la voie PI3K-Akt-mTOR (pour revue, Glass 2003). Dans ce contexte, seule la voie PI3K-Akt stimule l'hypertrophie musculaire. Ainsi, l'activation de l'anabolisme musculaire *via* IGF-1 n'est possible que par l'intermédiaire de l'activation de PI3K, et son activation est suffisante pour induire l'hypertrophie musculaire (pour revue, Glass 2003).

En résumé, l'induction de l'hypertrophie par IGF-1 passe par l'activation de deux protéines indispensables, PI3K et Akt. PI3K phosphoryle Akt. Puis, par cascade de phosphorylation, Akt active d'une part, les synthèses protéiques (par l'intermédiaire de l'activation de la voie mTOR), et inhibe d'autre part, les protéines impliquées dans l'apoptose. Tout comme PI3K, Akt peut également être régulée par d'autres facteurs. Leur activation n'est donc pas uniquement dépendante d'IGF-1.

4.2. Hypertrophie *via* la signalisation de la GH

Rôle de la GH dans l'hypertrophie musculaire

L'hormone de croissance (GH) est impliquée à la fois dans l'anabolisme et le catabolisme des cellules musculaires (Velloso 2008).

Concernant les adaptations musculaires à un entraînement en musculation, une étude a mis en évidence de fortes corrélations entre l'augmentation de la GH après les séances de musculation et l'hypertrophie des fibres de type I ($r = 0,74$) et de type II ($r = 0,71$) (McCall et al. 1999). Cependant, cette étude présentait un faible effectif ($n = 11$). Pour aller plus loin sur le sujet, une étude similaire sur 56 jeunes hommes, suivant un programme de musculation de 12 semaines a été menée. Cette recherche confirme l'existence d'une corrélation entre l'élévation de la GH après l'exercice de musculation et l'augmentation de la CSA des fibres de type I et II ($r = 0,36$ et $r = 0,28$ avec $p = 0,006$ et $p = 0,04$, respectivement). Bien que significative, cette corrélation est faible. En effet, cette élévation systémique n'expliquerait que $\sim 8\%$ ($R^2 = 0,078$) des adaptations musculaires dans le cadre d'un entraînement en musculation (West and Phillips 2012).

Mécanismes d'action de la GH dans l'induction de l'hypertrophie musculaire

La GH favorise l'anabolisme musculaire par la production d'IGF-1 (Kim et al. 2005). En effet, l'administration de GH entraîne quasiment instantanément une augmentation du niveau d'IGF-1 circulant (Aperghis et al. 2009). Les recherches effectuées chez l'humain, ont montré qu'IGF-1 et la GH ont des effets additifs sur l'anabolisme musculaire (pour revue, Schoenfeld 2013). Mais, en cas de sécrétion suffisante d'IGF-1, le rôle de la GH sur l'hypertrophie des muscles squelettique est moindre. En effet, des recherches effectuées chez l'Homme jeune et âgé n'ont pas montré d'augmentation significative de la masse musculaire dans le cadre d'une supplémentation en GH associée à un entraînement hypertrophique, comparée à une supplémentation placebo (Yarasheski et al. 1992, Lange et al. 2002). Dans l'étude de Yarasheski et collaborateurs, bien que la synthèse des protéines sur l'ensemble du corps soit majorée pour le groupe supplémenté en GH, la synthèse des protéines spécifiques aux muscles squelettiques ne l'est pas, comparé au groupe contrôle. La GH ne permet donc pas de stimuler la synthèse des protéines des muscles squelettiques ; mais participerait plutôt à la synthèse d'autres tissus non contractiles (i.e. collagène).

En résumé, l'effet de la sécrétion de la GH sur la modulation de la masse musculaire reste débattu. La plupart des recherches à ce sujet, soulignent l'effet minime de la GH seule sur l'anabolisme musculaire, qui nécessite effectivement la présence d'IGF-1. Concernant les adaptations musculaires chez l'Homme jeune et sain, la supplémentation en GH n'a pas d'effet prouvé sur l'augmentation de la masse musculaire et de la force musculaire (pour revue, Schoenfeld 2013). Il semblerait que ce soit plutôt une réponse systémique de toutes les hormones anabolisantes qui agissent simultanément sur l'hypertrophie musculaire, plutôt que la GH seule (Mitchell et al. 2013).

4.3. Hypertrophie via la signalisation de la testostérone

La testostérone est une hormone stéroïdienne synthétisée à partir du cholestérol, par les gonades et les glandes surrénales. Les taux circulants de testostérone sont environ dix fois supérieurs chez les hommes comparativement aux femmes. Cette différenciation hormonale est considérée comme étant la cause principale du développement musculaire supérieur après la puberté chez l'homme (Harridge 2007).

Implication de la testostérone dans l'hypertrophie musculaire

Une réduction du niveau circulant de testostérone (hypogonadisme) est directement corrélée à une perte de la masse musculaire et à une augmentation de la masse grasse

(Katznelson et al. 1996). Ces effets sont inversés avec une supplémentation en testostérone (Bhasin et al. 1997). Kvorning et al. (2006) ont démontré que la suppression de la production de testostérone chez les jeunes hommes - via l'ingestion d'une hormone analogue de la testostérone nommée « goserine » - inhibe les adaptations hypertrophiques d'un entraînement de 8 semaines en musculation. Par ailleurs, une supplémentation en testostérone peut induire une augmentation significative de la masse musculaire. Ces effets hypertrophiques sont majorés lorsqu'ils sont associés à un entraînement en musculation (Bhasin et al. 2001).

Mécanismes d'action de la testostérone dans l'induction de l'hypertrophie musculaire

La suppression de sécrétion endogène de testostérone n'impacte pas la sécrétion de myostatine, ni d'IGF-1, ni des récepteurs à androgènes (AR) (Kvorning et al. 2006). Ainsi, la réponse hypertrophique via la testostérone est régulée directement par l'activation des voies de signalisation intracellulaires impliquées dans l'hypertrophie musculaire. La testostérone a effectivement, une action favorable sur l'hypertrophie musculaire en agissant à la fois sur l'augmentation des synthèses protéiques et sur la diminution des dégradations protéiques (Zhao et al. 2008).

Le model de rongeurs castrés est souvent utilisé afin d'investiguer l'effet de la sécrétion endogène de testostérone. Dans ce cadre, White et al. (2013) ont montré que les taux de testostérone, la force et la masse musculaire du muscle gastrocnémien sont diminués dans le groupe de rongeurs castrés comparé au groupe contrôle. L'administration d'un stéroïde anabolisant (*Deca-Durabolin*) a permis de contre-balancer ces effets atrophiants.

Au niveau moléculaire, le manque de testostérone affecte notablement la synthèse des protéines. En effet, les auteurs rapportent une baisse significative de la phosphorylation d'Akt, de mTOR, de p70S6K et de 4EBP1, en cas de castration. Par ailleurs, l'ingestion de stéroïdes anabolisant rétablit l'expression de ces facteurs impliqués dans la régulation des synthèses protéiques. En parallèle, les marqueurs de la protéolyse (ARNm pour Murf1, Atrogin et REDD1) sont fortement augmentés par la castration (White et al. 2013).

La testostérone a également une influence sur la sécrétion d'autres hormones impliquées dans l'hypertrophie, à savoir l'IGF-1 et la GH. En effet, l'inhibition de sécrétion de testostérone est accompagnée d'une baisse de l'expression d'IGF-1. Inversement, lorsque les niveaux de testostérone et de GH sont élevés, la production endogène d'IGF-1 est majorée (White et al. 2013). Or, comme nous l'avons vu précédemment, IGF-1 joue un rôle sur l'activation de la voie

Akt-mTOR, conduisant à l'hypertrophie musculaire. Ainsi, de manière indirecte, la testostérone favorise, par ce deuxième mécanisme, l'anabolisme musculaire.

Dans une revue de littérature, Schoenfeld (2013), conclut que ce n'est pas uniquement l'effet d'une hormone qui contribue à l'anabolisme musculaire, mais la combinaison de la sécrétion de plusieurs hormones anabolisantes. Dans ce contexte, Ronnestad et al. (2011), ont démontré que l'élévation hormonale avant l'exercice (induite par la réalisation d'exercices de musculation sollicitant des masse musculaires importantes), permet de majorer le gain de CSA des muscles du bras, comparé au groupe n'ayant pas eu d'élévation hormonale avant l'exercice de musculation hypertrophiant du bras. Ceci peut avoir des conséquences pratiques sur l'organisation de l'entraînement en commençant, par exemple, par les exercices qui induisent une sécrétion hormonale amplifiée (mobilisation de masse musculaire importante, volume de travail important), pour terminer par les exercices mono-articulaires, plus spécifiques à un groupe musculaire (i.e. leg curl, biceps curl) (Ahtiainen et al. 2003).

En bref, la testostérone aurait donc un effet direct sur les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans l'hypertrophie (Akt-mTOR) et l'atrophie (FoxO, REDD) musculaire. De plus, la testostérone, majore la sécrétion d'hormones anabolisantes telles que l'IGF-1 et la GH. Par ces deux mécanismes, la testostérone joue un rôle indéniable dans l'induction de l'hypertrophie musculaire.

La question était de savoir si la réponse hormonale majorée à la suite d'un exercice en musculation sollicitant, jouait un rôle dans l'hypertrophie des muscles squelettiques. Compte tenu des résultats contradictoires entre les études, la réponse n'est pas figée et ne fait pas l'objet d'un consensus général dans la littérature scientifique. D'après l'étude des mécanismes cellulaires, il semblerait que les hormones anabolisantes puissent majorer l'activation des synthèses protéiques. Cependant, en réponse à un exercice, l'activation des voies de signalisation impliquées dans la protéosynthèse peut être établie, même sans régulation hormonale. Après l'exercice, la réponse hypertrophique des muscles squelettiques ne dépend donc pas uniquement de l'augmentation de la sécrétion hormonale. En dépit de cela, un manque de sécrétion hormonale participe à l'atrophie musculaire et une sécrétion hormonale majorée favoriserait l'hypertrophie musculaire *via* l'augmentation de la protéosynthèse et la baisse de la protéolyse. **Cependant, pour se traduire par une augmentation de l'accrétion des protéines, l'activation des systèmes biologiques devra être associée à une parfaite disponibilité en acides aminés.**

Chapitre III – Rôle de l'apport protéique

Nous abordons maintenant les grands principes qui doivent permettre une disponibilité tissulaire en acides aminés après l'exercice.

1. Intérêts des apports en protéines sur l'anabolisme musculaire

1.1. Les recommandations nutritionnelles en protéines

Les besoins nutritionnels sont définis par « la quantité nécessaire pour assurer l'entretien, le fonctionnement métabolique et physiologique, d'un individu en bonne santé comprenant les besoins supplémentaires, nécessaires pendant certaines périodes de la vie telles que la croissance, la gestation et la lactation » (AFSSA, 2000). Les besoins en protéines diffèrent donc en fonction de l'âge et du niveau d'activités. Nous nous intéressons ici, uniquement aux besoins en protéines de l'Homme adulte et sans pathologies détectées, lesquels dépendent directement du niveau et du type d'activités.

Les besoins en protéines pour un individu sédentaire sont évalués à 0,83 g/Kg/J (exprimés en grammes de protéines par kilogramme de poids de corps et par jour) (AFSSA, 2007). Les besoins protéiques du sportif sont supérieurs et diffèrent selon la pratique (endurance ou sport de force). Dans les sports d'endurance, les besoins protéiques se situent entre 1,2 et 1,4g/kg/J. Tandis que dans les sports de force, ils sont majorés, du fait d'une plus forte dégradation des protéines pendant l'effort (Tarnopolsky et al. 1992). Concernant ce type d'activités, il convient de distinguer les besoins selon deux phases. Une phase de maintien de la masse musculaire, lors de laquelle les besoins en protéines se situent entre 1,3 et 1,5g/kg/J. Une phase de développement de la masse musculaire, où, les besoins sont majorés et atteignent 1,8 à 2g/kg/J (AFSSA, 2007).

L'apport en protéines (via l'alimentation) détermine, entre autre, la balance azotée, influençant l'homéostasie de la masse musculaire squelettique au cours du temps (Phillips 2004). Dans ce cadre, la couverture des besoins quotidiens en protéines est indispensable à l'hypertrophie musculaire.

1.2. Effets synergiques de l'exercice et de l'apport en protéines sur l'anabolisme et l'hypertrophie musculaire

Après un exercice de musculation réalisé à jeun, les synthèses protéiques augmentent. Sans apport protéique après l'exercice, cette augmentation de la protéosynthèse n'est pas suffisante à l'induction d'une balance synthèses/dégradations positive, lors des trois premières heures de récupération (Biolo et al. 1995). En revanche, l'exercice en musculation - associé à un apport en acides aminés - potentialise l'augmentation des synthèses protéiques (Biolo et al. 1997, Atherton and Smith 2012), et ce jusqu'à 24 heures après l'exercice (Churchward-Venne et al. 2012 ; Figure 22). Après l'exercice, la protéosynthèse est donc majorée suite à l'ingestion de protéines, résultant en une balance synthèses/dégradations positive lors des 3h de récupération (Biolo et al. 1997).

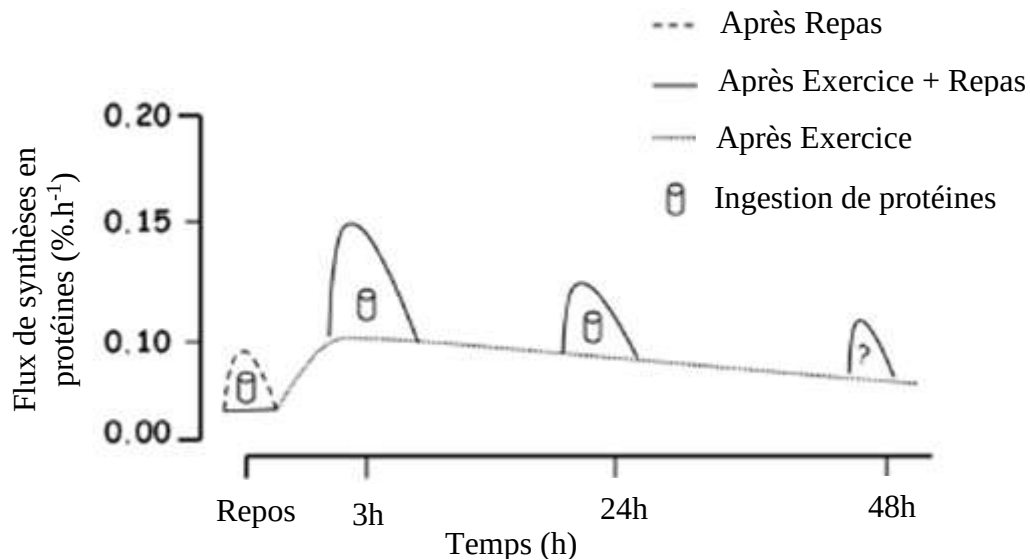


Figure 22. Réponses du flux de synthèses des protéines musculaires après l'ingestion de 20g de protéines, après un exercice en musculation ou après la réalisation d'un exercice de musculation associé à l'ingestion de 20g de protéines. En réponse à l'exercice et à l'apport en protéines, les flux de synthèses en protéines sont majorés, activés plus longtemps et cette plus forte réponse anabolique persiste jusqu'à 24h après l'exercice. (Churchward-Venne et al. 2012)

Dans le cadre d'une répétition d'exercices (entraînement en musculation), Cermak et al. (2012) témoignent également de l'intérêt de la supplémentation en protéines post-exercice, favorisant le gain de masse musculaire et de force (Cermak et al. 2012 ; Figure 23).

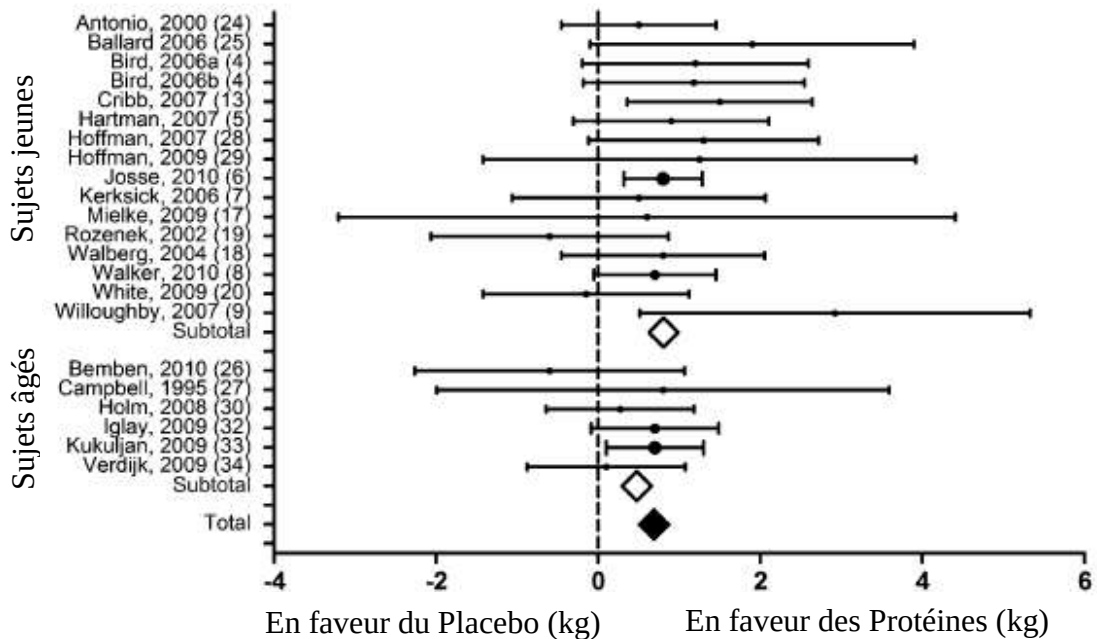


Figure 23. Gain de masse musculaire moyen par étude, regroupées dans une méta-analyse. A gauche se situent les études où le gain de masse musculaire est supérieur pour le groupe placebo ; à droite où le gain est supérieur pour le groupe supplémenté en protéines, chez les jeunes adultes et les personnes âgées. Pour chaque étude, le point représente la moyenne de l'effet de l'intervention et la ligne horizontale relie les valeurs extrêmes allant du minimum au maximum (à 95% de l'intervalle de confiance). La taille du cercle représente l'impact de l'étude dans cette méta-analyse, qui est déterminé par les auteurs, en fonction de la taille de l'échantillon et de la méthodologie. Les losanges blancs représentent la moyenne du sous-groupe (jeunes vs personnes âgées), et le losange noir la moyenne de toutes les études confondues. (Cermak et al. 2012)

Les deux stimuli (exercice et apport protéique) sont donc complémentaires et permettent de majorer les réponses musculaires à un exercice et un entraînement en musculation. Si l'intérêt d'un apport protéique en récupération de séances de musculation n'est plus à démontrer, l'optimisation de celui-ci, pourrait majorer les réponses hypertrophiques du muscle. Il s'agira alors de préciser les apports optimaux, de manière à ne pas dépasser les apports protéiques quotidiens recommandés (i.e. 1,8 à 2g/kg/J en cas de développement de la masse musculaire). « Optimiser » prend du sens pour préserver l'état de santé des sportifs, tout en maintenant les effets attendus d'une parfaite disponibilité tissulaire en acides aminés. **Les questions les plus importantes sont de savoir quels types de protéines il convient de privilégier, quelle quantité recommander et à quel(s) moment(s) précis les apporter.** L'optimisation de l'apport en protéines pendant la phase de récupération de séances de musculation constitue la question principale de cette thèse.

2. Optimisation de l'apport en protéines à la suite d'un exercice unique de musculation

L'intérêt de l'apport protéique - pour maximiser les effets de l'entraînement en musculation - a surtout été analysé dans les suites d'exercices isolés. Dans ce contexte, le type de protéines à recommander, la quantité optimale, les moments opportuns d'apports et la co-ingestion avec d'autres macronutriments ont fait l'objet de nombreuses études.

2.1. Type de protéines à privilégier à la suite d'un exercice de musculation

La qualité nutritionnelle des protéines détermine la disponibilité plasmatique en acides aminés essentiels (AAE), nécessaire pour assurer les synthèses protéiques. Celle-ci relève d'une part, de la composition en acides aminés essentiels de la protéine et, d'autres parts, de sa digestibilité et biodisponibilité.

2.1.1. Richesse en acides aminés essentiels et en leucine des protéines

Importance des acides aminés essentiels et de la leucine

Seuls les neuf AAE (isoleucine, leucine, valine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane, histidine) sont indispensables pour assurer la synthèse des protéines musculaires, les autres AA (non-essentiels) résultant de synthèses biochimiques au sein de l'organisme (Tipton et al. 1999). Au sein des AAE, les acides aminés à chaîne ramifiée ou acides aminés branchés (BCAA ; valine, isoleucine et leucine), et plus particulièrement la leucine, ont un rôle clé dans la régulation de l'anabolisme musculaire (Anthony et al. 2001).

La leucine joue un rôle, à la fois de « signal » et de substrat. En effet, cette dernière permet d'activer la cascade de phosphorylation de la voie de signalisation mTOR et de stimuler les synthèses protéiques (pour revue, Kimball and Jefferson 2006). Cette activation de mTOR par la leucine - indépendamment de toute autre influence endogène - est très spécifique de cet acide aminé (Atherton et al. 2010). La leucine se lie à une protéine nommée Sestrin2, permettant la dissociation de GATOR2 (GTPase-activating protein) avec Sestrin2, et l'activation directe de la kinase mTOR (Chantranupong et al. 2014, Wolfson et al. 2016). De plus, cette activation de mTOR est complémentaire, et non redondante avec celle induite par une sollicitation musculaire intense (comme un exercice de musculation) (Churchward-Venne et al. 2012).

Il semble exister, un taux de leucine minimal nécessaire pour activer de manière maximale les synthèses protéiques (notion de « *leucine threshold* ») (Churchward-Venne et al. 2012, Wilkinson et al. 2013, Churchward-Venne et al. 2014). En effet, l'étude de Churchward-Venne et al. (2014), a permis de comparer les effets - sur les synthèses protéiques en réponse à un exercice de musculation - de différents apports de protéines variant par leur contenu en leucine. Ils ont montré une plus forte activation de la protéosynthèse après l'ingestion de 25g de lactosérum (contenant 3g de leucine) et de 6g de lactosérum auquel était ajouté 4,25g de leucine (5g de leucine en tout), par rapport aux deux autres groupes (6g de lactosérum ou 6g de lactosérum + « *low-leucine* », dont les teneurs en leucine étaient de 0,75g et de 3g, respectivement). Ces résultats témoignent de l'importance du contenu en leucine dans l'apport protéique, notamment si la quantité de protéines apportée est inférieure aux quantités optimales recommandées (i.e. < 20-25g ; Partie 2.2).

D'un point de vue pratique, lorsque la quantité de protéines n'est pas suffisante, l'ajout de leucine pourrait faire face à ce manque (pour revue, Jager et al. 2017). Cependant, l'apport de leucine ou de BCAA seul, n'est pas suffisant pour l'induction maximale des synthèses protéiques à la suite d'un exercice en musculation (Churchward-Venne et al. 2012, Jager et al. 2017).

Les protéines riches en acides aminés essentiels et en leucine

La composition des protéines alimentaire dites de haute « qualité » se caractérise par la présence d'approximativement 40% d'AAE. De plus, la quantité minimale de leucine - contenue dans un apport protéique - permettant de maximiser la protéosynthèse se situe autour de ~3g (van Vliet et al. 2015). D'une manière générale, les protéines d'origine animale, plus riches en AAE et en leucine, ont une valeur biologique supérieure aux protéines végétales. A titre d'exemple, il faudrait consommer 500g de riz ou 300g de quinoa pour fournir 3g de leucine, contre 27g de lactosérum, 876mL de lait de vache ou 164g de viande de bœuf (van Vliet et al. 2015). Aussi, les protéines d'origine animale (viande, poisson, œuf, produits laitiers) sont constituées de chaînes polypeptidiques contenant l'ensemble des AAE. Ceci n'est, en revanche, pas toujours le cas des protéines végétales, dont il manque généralement un ou deux AAE. La protéine végétale la plus intéressante en récupération, du fait de sa teneur élevée et complète en AAE, est la protéine de soja. Elle est tout de même moins riche en acides aminés essentiels et en leucine comparée aux protéines d'origine animale. Par exemple, 20g de protéines de soja contient 7,4mg d'AAE contre 9,2 ; 9,5 et 10,1 contenus dans 20g de protéines de lait, de viande

de bœuf, et d'œuf, respectivement. La teneur en leucine est également inférieure (1,64mg pour le soja contre 1,98 ; 1,86 ; 1,96, pour le lait, la viande de bœuf et les œufs, respectivement) (Burke et al. 2012).

Après digestion de ces protéines, Wilkinson et al. (2007), ont montré une plus forte disponibilité plasmatique en acides aminés essentiels et en leucine, suite à l'ingestion de lait comparé au soja. Au niveau musculaire, cette biodisponibilité plasmatique supérieure, se manifeste par une plus forte activation de la protéosynthèse après l'exercice (Wilkinson et al. 2007, Tang et al. 2009).

Ainsi, le premier critère d'optimisation de l'apport en protéines à l'issue d'un exercice, repose sur la teneur en acides aminés essentiels et plus particulièrement en leucine de la protéine ingérée (pour revue, Phillips 2017). Néanmoins, la leucine doit faire partie d'une matrice alimentaire afin d'activer les synthèses protéiques sur une période suffisamment longue, nécessaire à l'anabolisme musculaire et à l'accrétion des protéines musculaires. En récupération de séance de musculation, il conviendra donc de choisir des protéines riches en AAE et notamment en leucine. Afin de rendre disponible au niveau plasmatique puis tissulaire les acides aminés contenus dans la protéine alimentaire, celle-ci doit également être digeste (Phillips 2017).

2.1.2. Digestibilité des protéines

Les protéines alimentaires sont digérées au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle par des enzymes spécifiques : principalement la pepsine (estomac) et la trypsine (intestin), mais aussi d'autres endo et exopeptidases. Les acides aminés libres et les oligo-peptides issus de la digestion sont absorbés et transportés par le sang jusqu'aux organes et tissus de l'organisme. Si la composition en acides aminés des protéines est un critère de qualité reconnu, la biodisponibilité postprandiale de leurs acides aminés constitue un autre facteur essentiel à leur efficacité biologique. C'est pourquoi la composition d'une protéine alimentaire doit être corrigée par sa digestibilité, ce qui permet de déterminer sa « qualité biologique ». Dans ce cadre, la qualité d'une protéine est mesurée par un score, prenant en compte sa composition en AAE et sa digestibilité. Ce fut longtemps mesuré par le PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score) (Moughan 2005) ; et récemment, une nouvelle méthodologie plus précise, a permis d'affiner ce score. Il s'agit du DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score) (Rapport FAO, 2013, Phillips 2017), qui se calcule tel que :

$$\text{DIAAS (\%)} = \frac{[\text{AA limitant digestible}] (\text{mg.g de protéine testée}^{-1})}{[\text{même AA}] (\text{mg.g de protéine de référence}^{-1})} \times 100$$

L'acide aminé « limitant digestible » est l'acide aminé mesuré au niveau de l'iléon.

La digestibilité de plusieurs protéines a été évaluée, telles que les protéines du lait, de lactosérum, de soja, de riz, de pois, de poulet, d'œufs, d'amandes, de maïs, de collagène. On observe des scores de DIAAS supérieurs à 100% - reflétant une excellente digestibilité - pour le lait écrémé, le lait entier, le lactosérum, le poulet et les œufs. Puis, les meilleurs scores sont attribués aux protéines végétales extraites du soja et des pois (90% et 82%, respectivement). Ces derniers aliments ont été ingérés sous forme de poudre, où la protéine est extraite et mixée. Ces mêmes protéines dans leur matrice alimentaire affichent des scores de digestibilité beaucoup moins élevés (i.e. 52% pour le tofu et 58% pour les pois cuits).

En résumé, la digestibilité est un indicateur permettant d'évaluer la quantité d'acides aminés contenue dans la protéine ingérée, susceptible d'être disponible au niveau du plasma après la digestion. Dans le but de fournir une parfaite disponibilité plasmatique en acides aminés après l'exercice, ce critère de qualité des protéines est fondamental. Généralement, les protéines d'origine animale ont une digestibilité supérieure à celle des protéines d'origine végétale. Néanmoins, des protéines de même digestibilité, peuvent avoir des vitesses de digestibilité, d'absorption et donc de biodisponibilité des acides aminés différentes. Cette caractéristique des protéines peut impacter différemment l'activation des synthèses protéiques après l'exercice.

2.1.3. Vitesse d'absorption et biodisponibilité des acides aminés

Protéines apportées sous forme liquide ou solide ?

Au niveau plasmatique, la diffusion des acides aminés de protéines digestes se manifeste de façon différente. Dans ce cadre, Burke et al. (2012) ont évalué la cinétique de disponibilité plasmatique en acides aminés, au repos et après un exercice, après l'ingestion de cinq aliments iso-azotés (20g de protéines) et de bonne qualité biologique (c'est-à-dire des protéines riches en AAE et digestes). Il s'agit du lait écrémé, d'une boisson de soja, de la viande de bœuf, des œufs de poule, et d'un substitut de repas liquide à base de protéines de lait et de soja (utilisé chez les sportifs à des fins de récupération). De manière intéressante, les auteurs décrivent que les aliments apportés sous forme liquide permettent une augmentation maximale de la concentration plasmatique en AAE, deux fois plus rapidement que les aliments ingérés sous la forme solide (i.e. ~50 minutes vs ~100 minutes).

Par ailleurs, au sein des aliments testés, le lait ressort particulièrement. Après son ingestion, la concentration plasmatique maximale en leucine est atteinte en ~25 minutes. Ceci étant significativement plus rapide que l'ensemble des autres aliments testés. A la suite de l'ingestion de lait écrémé, les concentrations plasmatiques maximales en acides aminés totaux

(AAT), AAE, BCAA et leucine sont également supérieures à celles des autres aliments (Figure 24).

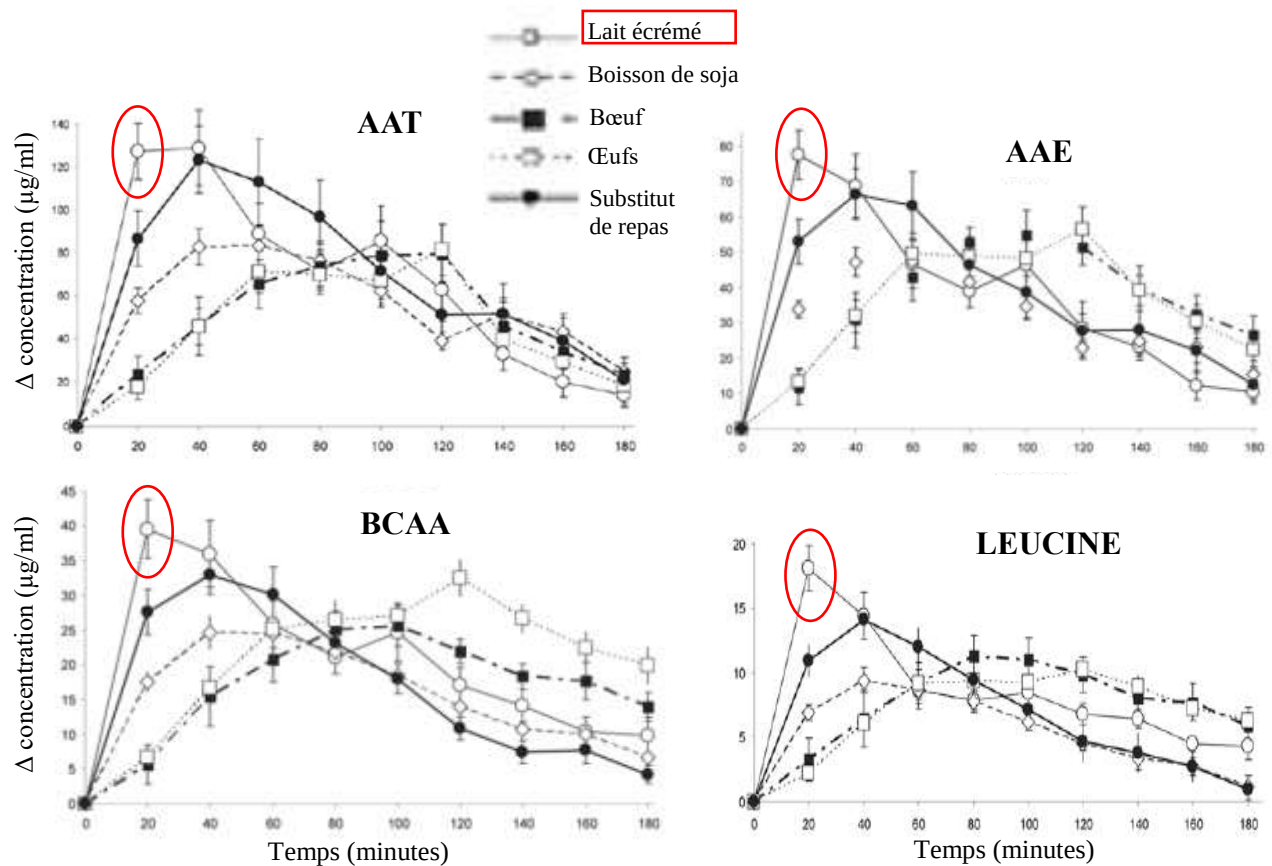


Figure 24. Evolution des concentrations ($\mu\text{g/ml}$) des Acides Aminés Totaux (AAT), Acides Aminés Essentiels (AAE), Acides Aminés Branchés (BCAA) et de leucine, lors des 3 heures après l'ingestion de différents aliments et boissons iso-azotés (lait écrémé, boisson de soja, bœuf, œufs durs et substitut de repas) apportant 20g de protéines. (Burke et al. 2012)

Etant donné l'existence d'un lien entre l'augmentation rapide et prononcée d'AAE et de leucine et l'augmentation des synthèses protéiques au repos (Koopman et al. 2009) et après l'exercice (West et al. 2011), les protéines de lait apparaissent donc comme une source intéressante de protéines, à apporter en récupération d'un exercice de musculation (pour revue, Roy 2008).

Notion de protéines « rapides » et de protéines « lentes »

Ainsi, des protéines de même digestibilité peuvent avoir des cinétiques de biodisponibilités de leurs acides aminés différentes. Ceci attrait à la notion de protéines à assimilation « rapide » et « lente ». Les protéines dites « rapides » sont caractérisées par une forte élévation, rapide et transitoire, de la disponibilité plasmatique en acides aminés après leur

ingestion. En revanche, les protéines dites « lentes » induisent une augmentation de la disponibilité plasmatique en acides aminés moins élevée mais plus durable (Boirie et al. 1997, Fruhbeck 1998).

Les protéines de lait en sont une excellente illustration. En effet, les deux familles de protéines présentes dans le lait, à savoir les caséines (protéines lentes) et les protéines de lactosérum (protéines rapides, appelées aussi protéines solubles ou whey) n'ont pas la même vitesse de digestion et donc, de diffusion des acides aminés. Les protéines de lactosérum, solubles à pH acide, sont rapidement disponibles dans l'intestin grêle. Leurs acides aminés sont alors rapidement absorbés et disponibles dans le plasma. A l'inverse, les caséines précipitent dans l'estomac. Elles sont, par conséquent, libérées lentement dans le grêle et leurs acides aminés sont absorbés plus lentement (Boirie et al. 1997).

Ces deux profils cinétiques ont des conséquences différentes sur l'anabolisme musculaire. Les travaux de Reitelseder et al. (2011) ont montré une augmentation rapide des synthèses protéiques après l'ingestion de protéines de lactosérum (de 1 à 3h après l'exercice), alors que la consommation de la même quantité de caséines induit une réponse décalée dans le temps (entre 3 et 6h après l'exercice). Ces deux protéines seraient donc complémentaires dans la modulation des synthèses protéiques : l'une ayant des effets rapides, l'autre des effets retardés. En effet, ingérées à l'arrêt d'un exercice de musculation, les protéines solubles majorent et prolongent l'activation des systèmes biologiques impliqués dans l'hypertrophie musculaire (Hulmi et al. 2009). Cet avantage potentiel des protéines de la fraction soluble, comparativement aux protéines de soja ou aux caséines, résulte d'une meilleure disponibilité des AAE dans l'organisme lors des trois premières heures de récupération (Tang et al. 2009).

Après l'exercice, les protéines à assimilation rapide et apportées sous forme liquide (i.e. lactosérum, lait) permettent donc une augmentation rapide - mais transitoire - des synthèses protéiques. Les protéines à assimilation lente (i.e. caséines) induisent, quant à elles, une activation de la protéosynthèse décalée dans le temps. Au niveau plasmatique, ces deux apports complémentaires, augmentent donc la durée de la disponibilité des acides aminés après l'arrêt d'un exercice de musculation, favorisant ainsi la stimulation des synthèses protéiques sur plusieurs heures après l'exercice (pour revue, Phillips and Van Loon 2011).

En résumé, en récupération d'une séance de musculation, les protéines riches en acides aminés essentiels, notamment en leucine et digestes (i.e. protéines d'origine animale de préférence) majorent la stimulation des synthèses protéiques. Lors des premiers instants de récupération, les études mettent en avant le bien-fondé d'une prise de protéines à assimilation rapide (i.e. lactosérum, protéines de soja, lait). En complément, les protéines à assimilation lente favorisent la stimulation des synthèses protéiques plusieurs heures après l'arrêt de l'exercice.

2.2. Quantité de protéines à privilégier à la suite d'un exercice unique de musculation

Le deuxième facteur d'optimisation de l'apport en protéines pour la récupération, est la quantité nécessaire à l'organisme afin d'atteindre le seuil maximal d'activation des synthèses protéiques. En effet, une quantité trop faible ne permet pas d'atteindre le seuil maximal de la protéosynthèse. Inversement, confronté aux limites du métabolisme des protéines, l'apport excessif ne pourra pas être utilisé pour l'augmentation des synthèses protéiques, et sera par conséquent, oxydé.

Quantité de protéines au repos et après l'exercice de musculation

La première étude - à avoir analysé l'effet dose-réponse de l'ingestion de protéines après un exercice de musculation sur les synthèses protéiques - fut proposée par l'équipe de Moore et al. (2009). Dans cette étude, les participants (jeunes hommes sains de 80kg en moyenne et entraînés en musculation) ont ingéré 5 différentes quantités de protéines d'œufs après un exercice, de manière randomisée en cross-over (essais espacés d'une semaine). Les auteurs ont montré qu'après un exercice unilatéral des membres inférieurs, la réponse de la protéosynthèse musculaire de la jambe augmente avec la quantité de protéines ingérées. Le seuil maximal des synthèses est atteint après l'ingestion d'approximativement 20g de protéines (Moore et al. 2009 ; Figure 25). Ces résultats sont confirmés, plus tard, par Witard et al. (2014) qui rapportent qu'un apport de 20g de lactosérum est suffisant pour augmenter de manière maximale les synthèses protéiques (comparé à 40g).

On suggère actuellement que 20 à 25g de protéines est la quantité optimale pour les jeunes individus en bonne santé de poids corporel de ~80kg, tant au repos (Witard et al. 2014), qu'après l'exercice (Moore et al. 2009).

Cependant, ces études se sont limitées à évaluer l'effet de la quantité d'apport en protéines uniquement après un exercice sollicitant les membres inférieurs. Une seule étude récente parue en 2016, a testé l'hypothèse selon laquelle les besoins protéiques seraient supérieurs suite à un exercice mobilisant les muscles de l'ensemble du corps (membres inférieurs et supérieurs). Dans ces conditions, les auteurs mettent en évidence que l'ingestion de 40g de protéines de lactosérum permet de majorer l'activation des synthèses protéiques comparée à une prise de 20g de protéines (Macnaughton et al. 2016 ; Figure 26B). Néanmoins, l'analyse des résultats révèle de faibles différences sur les niveaux de protéosynthèse entre ces

deux quantités, avec une variabilité des réponses individuelles relativement importante (Figure 26A).

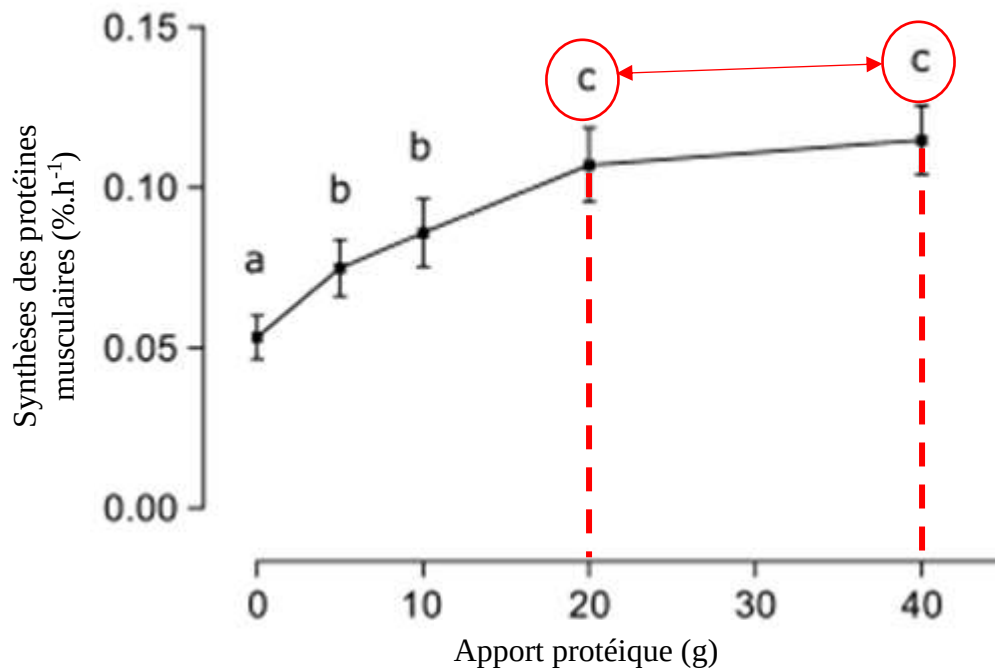


Figure 25. Moyenne ($\pm$ SEM) des flux de synthèses des protéines musculaires après un exercice en musculation unilatéral des membres inférieurs, et à la suite de l'ingestion de différentes quantités de protéines d'œuf (10, 20 ou 40g). Les moyennes avec des lettres différentes sont significativement différentes les unes des autres ($p < 0,01$, $n = 6$). (Moore et al. 2009)

En résumé, la quantité optimale de protéines, permettant de maximiser la protéosynthèse au repos et après un exercice de musculation sollicitant peu de masse musculaire (membres inférieurs ou supérieurs) serait de 20 à 25g par prise. En revanche, la quantité optimale de protéines pourrait être majorée (i.e. 40g) dans le cadre d'une récupération d'exercice mobilisant une masse musculaire plus importante (membres inférieurs et supérieurs). Ce principe nécessite validation grâce à d'autres investigations.

Quantité de protéines par rapport au poids corporel

Dans l'étude de Macnaughton et al. (2016), les auteurs ont constitué deux groupes expérimentaux : un groupe ayant une masse maigre relativement faible (MM faible, ≤ 65 kg) et un groupe ayant une masse maigre plus importante (MM élevée, ≥ 70 kg). Bien qu'ils n'aient observé aucune différence entre les groupes, les besoins protéiques en récupération, au même titre que les besoins quantitatifs au quotidien, sont probablement dépendants du poids corporel, et plus particulièrement de la masse maigre des individus.

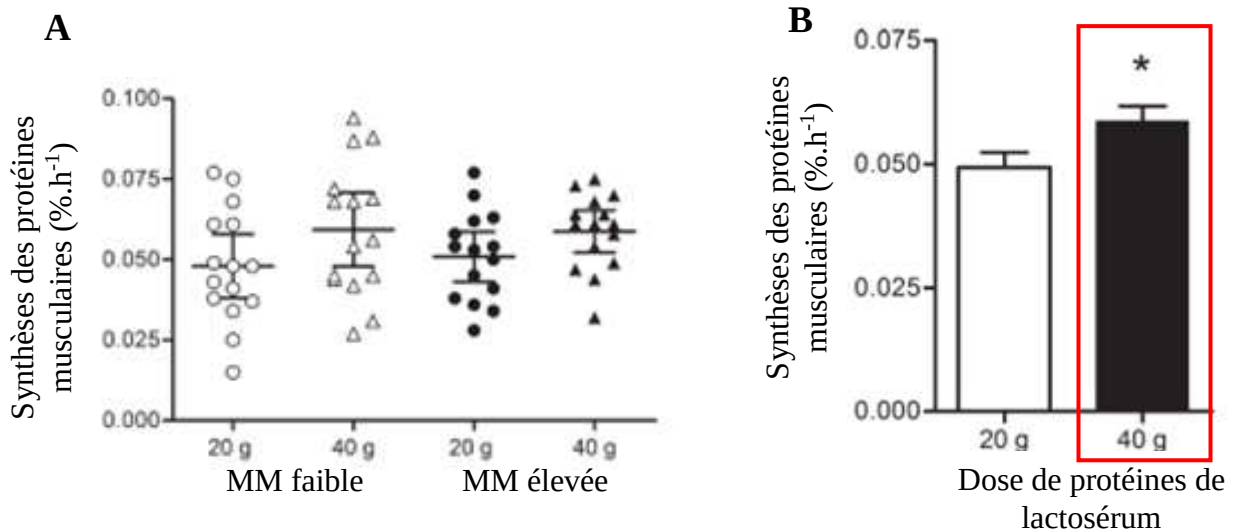


Figure 26. **A.** Synthèses des protéines myofibrillaires pour chaque participant après la réalisation d'un exercice de musculation de l'ensemble du corps et suite à l'ingestion de 20g ou 40g de protéines de lactosérum, en fonction du groupe ayant une masse maigre (MM) faible (≤ 65 kg) ou élevée (≥ 70 kg). **B.** Moyenne ($\pm$ SD) des flux de synthèses des protéines myofibrillaires après la réalisation d'un exercice en musculation de l'ensemble du corps et suite à l'ingestion de 20g ou 40g de protéines de lactosérum, pour les deux groupes confondus. Les flux de synthèses de protéines ont été mesurés lors des 5h post-exercice. *, différence significative entre les deux quantités de protéines ($p < 0,05$). (Macnaughton et al. 2016)

Ces besoins ont été ré-évalués - grâce à la mesure des flux de synthèses protéiques au repos - après l'ingestion de différentes quantités de protéines, rapportées cette fois, au poids corporel (en g/kg de poids corporel) et à la masse maigre (g/kg de masse maigre) des individus (Moore et al. 2015). Les participants à cette étude ont un poids moyen de 79,9kg, avec cependant de grandes disparités inter-individuelles (i.e. 58,2kg à 116,8kg). Cette hétérogénéité est représentative des différents gabarits retrouvés dans la population sportive générale, et a permis de normaliser la quantité d'apport optimale de protéines en fonction du poids des individus. D'après les résultats, en moyenne, un apport protéique de 0,24g/kg de poids corporel ou 0,25g/kg de masse maigre est suffisant et nécessaire à l'élévation maximale des synthèses protéiques. Les auteurs soulignent tout de même, une variabilité - dans les réponses musculaire - relativement importante en fonction des individus. En effet, pour certains, les synthèses protéiques maximales sont atteintes avec un apport de 0,18g/kg, alors que pour d'autres, 0,39g/kg de protéines sont nécessaires (Moore et al. 2015).

Selon ces résultats, il semblerait que les besoins quantitatifs varient en fonction des individus. Afin de répondre aux besoins de tous, les auteurs conseillent une prise de 0,24g/kg, pouvant aller jusqu'à 0,4g/kg (Moore et al. 2015).

Ces quantités optimales ont été évaluées dans le cadre d'une prise de protéines seule. Est-ce que ces besoins quantitatifs sont les mêmes lorsque les protéines sont ingérées avec d'autres macronutriments, comme par exemple, lors du repas ?

Quantité de protéines lors du repas

A la suite d'un repas, Symons et al. (2009) ont mesuré les niveaux d'activation de la protéosynthèse, en réponse à un apport modéré de protéines de bœuf (~30g) ou un apport plus important (~90g) lors du repas. Ils ne constatent aucune différence sur la réponse des flux de synthèses protéiques, entre les deux repas.

Comme en témoigne les études précédemment citées, la quantité optimale est souvent déterminée à la suite de l'évaluation maximale des synthèses protéiques. Or, l'anabolisme musculaire résulte des synthèses et des dégradations des protéines (Morton et al. 2015). Certains auteurs ont ainsi suggéré que des apports excédentaires en protéines, dans le contexte d'un repas, pourraient limiter la protéolyse et ainsi augmenter l'accrétion des protéines musculaires (Deutz and Wolfe 2013). Selon cette hypothèse, les auteurs concluent qu'il n'y aurait pas de limite maximale d'apport protéique pour l'anabolisme musculaire, lors d'un repas (Deutz and Wolfe 2013). Cette hypothèse est réfutée par plusieurs auteurs, selon les arguments suivants :

- les variations du niveau des synthèses protéiques sont bien plus importantes que celles de la protéolyse (4 à 5 fois supérieurs) (Phillips et al. 2007). Ainsi, l'impact de la protéolyse de l'ensemble du corps est faible, et celle des protéines des muscles squelettiques d'autant plus (~25 à 30% de la protéolyse musculaire de l'ensemble du corps) (Nair et al. 1988).
- Au plan technique, il est difficile de mesurer précisément la protéolyse.
- Enfin, selon certains scientifiques, même si une quantité de protéines supérieure était reconnue comme favorable à l'inhibition de la protéolyse musculaire, celle-ci ne serait pas souhaitable. En effet, la réduction de la protéolyse altérerait le renouvellement nécessaire des protéines de structure, les processus de réparation des dommages musculaires, ainsi que l'élimination des protéines anormales (pour revue, Morton et al. 2015).

En théorie, on peut donc suggérer que la détermination de la quantité optimale de protéines peut être évaluée par l'étude des flux de synthèses protéiques uniquement. Ainsi, lors d'un repas, la quantité optimale se situe autour de 20 à 30g de protéines, comme en situation de récupération post-exercice ou au repos.

Quantité de protéines avant le coucher

Outre la prise de protéines immédiatement après l'effort, l'intérêt potentiel d'une prise de protéines avant le coucher a émergé dans les recherches scientifiques. Malgré une activité digestive ralentie lors du sommeil, les protéines ingérées avant le coucher sont digérées et assimilées par l'organisme pendant la nuit (Groen et al. 2012). L'ingestion de 40g de caséine avant le coucher permet d'augmenter significativement les synthèses protéiques, résultant en une balance synthèses/dégradations positive lors de la période nocturne (i.e. 7h30 de sommeil) (Res et al. 2012). En revanche, en réponse au même protocole - mais cette fois avec un apport de 30g de caséine - les synthèses protéiques pendant les 7h30 de sommeil ne sont pas significativement augmentées (Trommelen and van Loon 2016). Ces résultats illustrent un potentiel effet dose-réponse à l'ingestion de protéines à assimilation lente avant le coucher. La quantité optimale est supérieure à celle déterminée post-exercice, puisqu'il s'agit du seul moment de la journée où aucune activité ni apport protéique ne subvient pendant plus de 7h (Trommelen and van Loon 2016).

L'apport de 40g de caséine avant le coucher permettrait donc d'augmenter la protéosynthèse et de limiter la protéolyse pendant la nuit. Il s'agit ici, des études préliminaires à cette stratégie d'optimisation. D'autres études sont nécessaires afin de préciser, d'une part, l'intérêt d'un apport de caséines avant le coucher sur les synthèses protéiques et le gain de masse musculaire, et, d'autres parts, les modalités de cette prise et notamment la quantité nécessaire.

En résumé, les connaissances actuelles indiquent que les besoins en protéines après l'exercice se situent autour de 20 à 25g, pour des individus de ~80kg. Plus précisément, la quantité optimale serait en moyenne de 0,24g/kg de poids corporel. Il existe cependant, selon les individus, une grande variabilité en réponse à l'apport protéique. Dans ce cadre, certains auteurs préconisent un apport protéique allant jusqu'à 0,4g/kg de poids corporel, après l'exercice et lors des repas. Toutefois, cette quantité peut être supérieure aux besoins de certains individus. De plus, ces apports sont à intégrer dans les apports journaliers en protéines, qui ne doivent pas dépasser les besoins nutritionnels en protéines conseillés pour l'augmentation de la masse musculaire (c'est-à-dire au maximum de 2g/kg/J).

2.3. Moments d'apports de protéines à privilégier à l'issue d'un exercice unique de musculation

L'exercice et l'apport concomitant de protéines agissent en synergie pour maximiser l'anabolisme musculaire, tant dans l'amplitude que sur la durée d'élévation des synthèses protéiques (Biolo et al. 1997, Rennie 2001). Dans ce cadre, la question du moment d'apport en

protéines constitue un facteur d'optimisation des réponses musculaires à l'exercice en musculation.

Avant, pendant ou après l'exercice de musculation ?

Levenhagen et al. (2001) ont comparé la prise de 10g de protéines soit immédiatement après l'exercice, soit 3h après la fin d'un exercice de musculation. Ils rapportent une plus forte élévation des synthèses protéiques lorsque l'apport en protéines est immédiat après l'exercice, en particulier grâce à l'induction d'une concentration plasmatique en acides aminés supérieure (Levenhagen et al. 2001).

Au niveau plasmatique, l'hyperaminoacidémie peut être également induite en réponse à l'ingestion de protéines avant l'exercice (Tipton 2007). Au niveau musculaire, ce phénomène se traduit par une même augmentation de la protéosynthèse, à la suite de l'ingestion de protéines avant ou après l'exercice de musculation (Burke et al. 2012).

Malgré cela, il est probable qu'une hyperaminoacidémie pré-exercice limite la réponse anabolique à l'apport d'acides aminés en fin d'exercice. Dans ces conditions, la limite de la capacité de transport des acides aminés du plasma vers le tissu musculaire pourrait être atteinte (Atherton et al. 2010).

Par ailleurs, dans la majorité des protocoles, l'exercice est réalisé à jeun, justifiant potentiellement la prise de protéines avant l'exercice. Cependant, ces conditions d'exercice en laboratoire, tranchent avec les conditions réelles de pratiques d'exercices de musculation dans un contexte de programme d'entraînement chez les sportifs (prise généralement d'une collation ou d'un repas quelques heures avant l'exercice). Ainsi, les résultats de ces études ne seraient peut-être pas ceux attendus dans des conditions plus proches de la réalité « de terrain » (pour revue, Morton et al. 2015).

Lorsque les protéines sont apportées pendant l'exercice (i.e. 0,15g/kg/h de glucides et 0,15g/kg/h de d'hydrolysate de caséine, ingéré 15 minutes avant l'exercice et toutes les 15 minutes pendant l'effort), les synthèses protéiques lors des 2h post-exercice, sont majorées comparé à l'apport glucidique sans protéine (Beelen et al. 2008). Les auteurs de cette étude suggèrent donc que l'apport en protéines pendant ou avant l'exercice pourrait favoriser les réponses de l'anabolisme musculaire après un exercice de musculation.

Pour autant, ces stratégies d'apport ne sont pas recommandées, puisque l'accumulation des acides aminés ingérés avant ou pendant l'exercice induit une moindre sensibilité à l'apport en protéines post-exercice (pour revue, Morton et al. 2015).

En résumé, apporter des protéines avant ou après l'exercice induit un même niveau d'activation de la protéosynthèse post-exercice. Malgré ces résultats, d'un point de vue physiologique et pratique, l'apport en protéines immédiatement après l'exercice de musculation semble être la stratégie la plus appropriée et justifiée (pour revue, Morton et al. 2015). Comme nous l'avons vu précédemment, les synthèses protéiques sont majorées jusqu'à 24h après l'exercice. Les apports protéiques durant cette période seront donc nécessaires à l'induction maximale des synthèses protéiques (Churchward-Venne et al. 2012).

Fréquence d'apports après l'exercice

La combinaison d'un exercice de musculation et d'un apport en protéines immédiatement après celui-ci, augmente les synthèses protéiques dans les premières heures après l'exercice et ce jusqu'à 24h après celui-ci (Burd et al. 2012). Cette période anabolique élargie confirme, d'une part, l'avantage d'un apport rapide après l'exercice ; et d'autre part, la nécessité d'apports fréquents pendant les heures suivant l'arrêt de celui-ci.

En l'état actuel des connaissances, Areta et al. (2013) sont les seuls à avoir mesuré l'effet de la fréquence d'apports de protéines en récupération d'un exercice de musculation. Dans cette étude, les flux de synthèses de protéines - lors des 12h de récupération après l'exercice - ont été évalués, en réponse à 3 modalités différentes d'apports protéiques. La première distribution de protéine consiste en un apport de 40g toutes les 6h (2 x 40g), la deuxième fournit 20g de protéines toutes les 3h (4 x 20g), et la dernière apporte 10g de protéines, toutes les 1h30 (8 x 10g). Avec un apport de 20g de protéines toutes les 3h, la protéosynthèse est significativement majorée au regard des deux autres modalités testées (Areta et al. 2013).

Nous pouvons alors nous demander si une prise de 20g toutes les 1h30 permettrait d'augmenter davantage les synthèses protéiques. Mais, une telle stratégie fournirait une quantité de 160g de protéines, soit 2g/kg de poids de corps pour un individu de 80kg. Dans ces conditions, les apports nutritionnels conseillés seraient probablement largement dépassés.

Un apport protéique répété toutes les 3h après l'exercice, semble donc représenter la fréquence optimale. Lors d'un nyctémère, le seul moment où l'organisme ne reçoit aucun apport alimentaire pendant plus de 7h, est la phase de sommeil. Cette phase nocturne se caractérise par un état de catabolisme musculaire (dégradations supérieures aux synthèses protéiques). Certains chercheurs se sont donc intéressés à l'impact de l'ingestion de protéines à assimilation lente avant le coucher, sur le métabolisme des protéines lors du sommeil.

Apport de protéines avant le coucher

Durant la période nocturne, on enregistre une baisse la protéosynthèse et une augmentation de la protéolyse, se traduisant par une balance synthèses/dégradations négative, propice au catabolisme musculaire. L'exercice réalisé le soir avec une supplémentation post-exercice de 20 à 25g augmente la protéosynthèse. Mais celle-ci n'est pas suffisante à l'induction d'une balance azotée positive pendant la nuit (Trommelen and van Loon 2016).

En revanche, suite à un exercice réalisé le soir, un apport de 40g de caséine avant le coucher augmente la protéosynthèse de l'ordre de 22%, ce qui permet l'obtention d'une balance synthèses/dégradations positive pendant la période nocturne (Res et al. 2012).

Cependant, dans cette étude, les deux groupes n'ont pas les mêmes apports azotés. Il n'est donc pas à exclure qu'une prise de 40g de caséine pour le groupe contrôle - mais à un autre moment - aurait pu induire la même réponse anabolique. En d'autres termes, afin d'identifier clairement le rôle joué par ce moment d'apport spécifique (avant le coucher), la comparaison de deux groupes ayant la même supplémentation protéique, mais apportée à différents moments est primordiale. Des études complémentaires sont donc nécessaires.

En résumé, dans le but de maximiser la protéosynthèse post-exercice, l'ensemble des études démontrent 1) l'importance d'un premier apport protéique immédiatement après l'exercice de musculation ; 2) l'importance de réitérer cet apport toutes les 3h ; et 3) l'intérêt de l'apport en protéines avant le coucher. Concernant ce dernier moment d'apport, les recherches n'en sont qu'à leurs débuts. D'autres études sont nécessaires, avant de pouvoir émettre un consensus scientifique à l'égard de cette nouvelle potentielle stratégie d'optimisation de l'apport en protéine.

2.4. Pertinence de l'association des protéines avec d'autres macronutriments

L'association des protéines avec d'autres macronutriments, tels que les glucides et les lipides, peut altérer certains facteurs physiologiques connus pour réguler l'anabolisme musculaire.

Co-ingestion avec des glucides

L'insuline stimule la protéosynthèse au repos (Biolo et al. 1995, Hillier et al. 1998, Biolo et al. 1999) et freine la protéolyse après l'exercice (Biolo et al. 1999, Borsheim et al. 2004, Roy 2008). Lorsque l'insuline est co-injectée avec des acides aminés, on observe une élévation des synthèses de protéines (Bennet et al. 1990, Hillier et al. 1998) et une légère atténuation de la

protéolyse, comparée à l'ingestion d'acides aminés seuls (Bennet et al. 1990) ou d'insuline seule (Hillier et al. 1998).

Or, l'insuline est sécrétée majoritairement en réponse à l'élévation de la glycémie. Le glucose contrôle alors directement la production d'insuline. En pratique, l'ingestion de glucides associée à 6g d'acides aminés majeure l'utilisation des acides aminés à hauteur de 60%, augmentant ainsi les synthèses protéiques et réduisant la protéolyse, comparée à la prise d'acides aminés seuls (Bird et al. 2006).

Cependant, lorsque la quantité de protéines est suffisante (~25g), l'ajout de glucides, au repos (Gorissen et al. 2014) et après l'exercice (Glynn et al. 2010, Staples et al. 2011) ne permet pas de majorer la protéosynthèse, ni de limiter la protéolyse (Koopman et al. 2007, Glynn et al. 2010, Staples et al. 2011).

Ceci s'explique parce que le niveau d'insuline requis pour l'augmentation optimale des synthèses protéiques est remarquablement bas (i.e. 10-15 IU/ml). Ces valeurs sont seulement 2 à 3 fois supérieures aux valeurs de repos chez les sujets sains. Le niveau requis d'insuline pour stimuler l'anabolisme musculaire, est donc aisément atteint avec des quantités relativement faibles de protéines après l'exercice (Rennie et al. 2006).

En résumé, étant donné la faible quantité d'insuline nécessaire à la stimulation maximale de la protéosynthèse par ce mécanisme, l'apport en protéines - dans des quantités adéquates - semble suffisant à la sécrétion optimale d'insuline après l'exercice. Ainsi, lorsque la quantité de protéines est appropriée, l'ajout de glucides ne majore pas l'anabolisme des protéines musculaires, à la suite d'un exercice de musculation. En revanche, lorsque la quantité de protéines n'est pas suffisante, l'ajout de glucides pourrait potentiellement majorer les synthèses protéiques et inhiber la protéolyse, via la sécrétion d'insuline.

Co-ingestion avec des lipides

Elliot et al. (2006), ont comparé les effets de l'ingestion de lait entier ou de lait écrémé isocalorique (dépourvu d'acides gras) sur le niveau de protéosynthèse, après un exercice des membres inférieurs. Ils révèlent une meilleure utilisation de phénylalanine et de thréonine (représentative de la protéosynthèse) après l'ingestion de lait entier, sans pour autant de différence significative entre les deux groupes. En situation de repos, d'autres études confirment que l'ajout de lipides à l'apport protéique ne permet pas de maximiser les synthèses de protéines musculaires (Svanberg et al. 1999, Katsanos et al. 2009).

Supplémentation en acides gras polyinsaturés

Outre l'apport de lipides, il a récemment été suggéré qu'une supplémentation en acides gras polyinsaturés (n-3) pouvait optimiser les réponses musculaires à un exercice en musculation (McGlory et al. 2014). Cette hypothèse fut émise à partir de deux potentiels mécanismes. En premier lieu, les acides gras polyinsaturés pourraient améliorer la qualité des structures membranaires, qui sont principalement constituées de lipides, de protéines et d'une très faible quantité de sucre. Parmi ces lipides, il y a essentiellement des phospholipides, et en moindre quantité du cholestérol. Les phospholipides sont à l'origine de la fluidité membranaire (indispensable à la capacité de déformation des cellules), de la perméabilité membranaire (facilitant l'incorporation de certains nutriments dans l'espace intracellulaire) et de la capacité de transmission et de communication cellulaire par l'intermédiaire des récepteurs membranaires. Or, l'apport en acides gras n-3 peut modifier le profil lipidique des membranes phospholipidiques des cellules musculaires. Ce mécanisme pourrait potentiellement améliorer la communication entre le milieu extra et intracellulaire, et ainsi la détection et le transport des acides aminés au niveau des cellules musculaires.

Différentes études ont rapportées qu'à la suite d'une supplémentation quotidienne d'huile de poisson enrichie en acides gras n-3 pendant 8 semaines, la concentration en acides gras n-3 des muscles squelettiques est supérieure (Smith et al. 2011, McGlory et al. 2014). De façon concomitante, ils ont observé une activation supérieure des protéines impliquées dans la régulation des synthèses protéiques (i.e. FAK, mTORC1) en réponse à une hyperaminoacidémie et une hyperinsulinémie (Smith et al. 2011, McGlory et al. 2014). Cependant, ces études ont été réalisées dans un contexte de laboratoire (perfusion d'acides aminés et d'insuline). Par conséquent, elles ne répondent pas obligatoirement aux questions pratiques de suites d'exercices et d'ingestion de protéines par voie orale.

S'appuyant sur ces travaux, Macnaughton et al. (2016) ont comparé les effets d'une supplémentation (5g/jour pendant 8 semaines) d'huile de poisson (riche en acides gras n-3) ou d'huile de coco (pauvre en acides gras n-3), sur les réponses anaboliques à un exercice unique et la prise de 30g de protéines de lactosérum en récupération de celui-ci. Ils n'ont observé aucune différence significative entre les deux groupes. De manière inattendue, les auteurs ont constaté que la supplémentation en huile de poisson réduit l'activité d'intermédiaires de la signalisation PKB-mTOR, comme les kinases p70S6K1 et PKB (Akt). Or, la voie PKB-mTORC1-p70S6K1 est largement impliquée dans l'augmentation des synthèses protéiques (Drummond et al. 2009) (Chapitre II).

Les résultats de cette récente étude sont donc en contradiction avec les premiers travaux de Smith et al. (2011), dans laquelle ils ont mis en évidence qu'une supplémentation en acides gras n-3 stimule les synthèses protéiques à la suite d'une hyperaminoacidémie.

Ces divergences de résultats peuvent s'expliquer selon plusieurs raisons.

- En premier lieu, les synthèses protéiques de l'ensemble de l'organisme ont été mesurées dans l'étude de Smith et collaborateurs, contre la protéosynthèse des myofibrilles dans l'étude de McGlory et collaborateurs.
- En second lieu, le mode d'ingestion est différent (i.e. intraveineux vs voie orale).
- En troisième lieu, le mode intraveineux utilisé dans l'étude de Smith et collaborateurs, a fourni des quantités d'acides aminés suboptimales, conduisant à une élévation maximale de la concentration plasmatique en leucine de ~165-175 $\mu\text{mol/L}$. Par opposition, la prise orale de 30g de lactosérum (0,35g/kg de protéines), induit une élévation maximale de la concentration plasmatique de leucine à ~250-300 $\mu\text{mol/L}$. Cette quantité est supérieure aux besoins optimaux (Moore et al. 2009), ce qui permet de suggérer qu'aucun autre facteur n'est susceptible de majorer le flux des synthèses protéiques (i.e. « *muscle full effect* » (Atherton et al. 2010)).

Le deuxième effet potentiel d'une supplémentation en acides gras n-3 repose sur l'effet anti-inflammatoire reconnu des acides gras polyinsaturés. L'exercice s'accompagne d'une élévation de l'inflammation au niveau musculaire. Cette inflammation post-exercice représente un mécanisme protecteur essentiel à la prévention des blessures et des infections. En effet, lorsque l'organisme se situe dans un état inflammatoire aigu (i.e. après un exercice de musculation), les mécanismes de clearance et de réparation cellulaires sont activés afin de préserver l'homéostasie des tissus et de l'organisme (Markworth et al. 2016).

Dans ce cadre, une supplémentation en acides gras n-3 induit la baisse de l'expression de la voie mTOR (McGlory et al. 2016). En effet, toute stratégie à visée « anti-inflammatoire » post-exercice pourrait alors, perturber l'activation des mécanismes endogènes, parfaitement bien régulés après l'exercice (Markworth et al. 2016). Selon les mêmes mécanismes, on retrouve également une moindre activation de mTOR après l'exercice, en réponse à l'immersion en eau froide (qui a une visée anti-inflammatoire) (Roberts et al. 2015, Figueiredo et al. 2016).

Ainsi, chez les sujets sains, sans inflammation chronique, une supplémentation en acides gras n-3 semble être néfaste à l'induction de l'anabolisme musculaire suite à un exercice de musculation. En revanche, cette stratégie anti-inflammatoire pourrait être intéressante pour les individus en situation d'inflammation et de stress chronique (i.e. vieillissement, infection, diabète, immobilisation, blessure, etc.). Ceci puisque l'inflammation chronique, par opposition à l'inflammation aiguë, majore la sécrétion de radicaux libres, qui ont une action néfaste sur les protéines contractiles, et inhibent les synthèses de protéines tout en majorant la protéolyse.

Le bilan des premières études à ce sujet, suggère que l'ajout de lipides aux protéines après l'exercice ne semble pas jouer de rôle bien identifié sur la modulation des synthèses protéiques. De même, la supplémentation en acides gras n-3 ne permet pas de majorer la protéosynthèse à la suite d'un exercice et la prise de protéines. Cette supplémentation pourrait même inhiber l'anabolisme musculaire.

En résumé, lorsque la quantité optimale de protéines est apportée en récupération de séance de musculation, l'ajout de glucides, de lipides ou la supplémentation en acides gras n-3, ne semble avoir aucun effet additif sur l'anabolisme musculaire.

2.5. Synthèse des connaissances et applications pratiques

La qualité, la quantité et les moments d'apports des protéines modulent les réponses anaboliques à un exercice de musculation. Les données de la littérature scientifique nous permettent de dégager quelques points clés relatifs à l'optimisation de l'apport en protéines en récupération d'un exercice de musculation.

- Les protéines riches en acides aminés essentiels, notamment en leucine, et digestes (protéines d'origine animale principalement) sont favorables à l'anabolisme musculaire. De plus, les protéines à assimilation rapide (i.e. lactosérum, lait, soja) semblent être avantageuses à l'augmentation rapide mais transitoire des synthèses protéiques post-exercice. A l'inverse, les protéines à assimilation lente (i.e. caséine, viande, œuf), favoriseraient les synthèses protéiques quelques heures après leur ingestion, mais lors d'une période plus longue.
- La quantité optimale après l'effort, au repos et lors des repas, est en moyenne de 0,24g/kg de poids de corps.

- Les moments d'apports qui semblent les plus opportuns sont : immédiatement après l'effort (dans l'heure suivant l'arrêt de l'exercice), puis réitéré toutes les 3h, et probablement avant le coucher.
- La co-ingestion de glucides et/ou de lipides avec les protéines n'est pas nécessaire dans la mesure où la quantité de protéine apportée est suffisante.

Ces stratégies d'apports en protéines sont issues d'études réalisées à la suite d'un exercice unique. Dans un contexte d'entraînement, avec une répétition d'exercices de musculation, le métabolisme des protéines évolue (Partie II.2.2). **Il semble donc inintelligible de déterminer, à partir de l'évolution de la protéosynthèse, l'effet concret de ces stratégies d'apports en protéines sur, les gains de masse musculaire et de force en réponse à un entraînement.**

3. Optimisation de l'apport en protéines dans le cadre d'un entraînement en musculation

Le gain de masse musculaire et de force ne s'obtient pas après un exercice unique de musculation, mais nécessite la répétition de ces exercices sur plusieurs semaines d'entraînement. L'anabolisme musculaire en réponse à un exercice unique et à la prise de protéines (que nous venons de décrire) peut être affecté avec l'entraînement. Il est alors primordial d'étudier les réponses musculaires dans le cadre d'un entraînement en musculation.

Dans cette troisième partie, nous traiterons de l'optimisation de l'apport en protéines dans le cadre d'un entraînement en musculation, sur l'augmentation de la masse musculaire et de la force maximale. Nous choisirons les études utilisant les méthodes de référence pour la mesure de l'hypertrophie musculaire (absorptiométrie biphotonique à rayon X, DEXA et imagerie médicale par résonnance magnétique nucléaire, RMN ou tomographie, pour les mesures de la masse musculaire sur coupes transversales de segments de membres, CSA). La force maximale isométrique et/ou anisométrique (méthodologie de la répétition maximale, 1 RM) et la détermination de la puissance seront également prises en compte.

Si l'intérêt d'une supplémentation en protéines - dans le cadre d'un entraînement en musculation - n'est plus à démontrer (Cermak et al. 2012), il semblerait que l'optimisation de cet apport protéique, puisse permettre d'augmenter les gains de masses musculaires et de force. Ceci implique la prise en considération de différents facteurs tels que la qualité, la quantité, les moments opportuns d'apports et la co-ingestion avec d'autres macro-nutriments. Nous détaillerons les données actuelles quant à l'effet et l'intérêt de chacun de ces facteurs

d'optimisation, démontrées en réponse à un entraînement en musculation. Enfin, les applications pratiques de ces études seront développées en fin de chapitre.

3.1. Type de protéines à privilégier dans le cadre d'un entraînement en musculation

Les protéines les plus étudiées en réponse à un entraînement en musculation sont les protéines de haute « qualité biologique », telles que les protéines de lait, lactosérum, caséine et soja (Partie 2.1).

Composition en acides aminés essentiels et en leucine

En accord avec les études réalisées à la suite d'un exercice unique, de nombreux travaux révèlent que l'apport en protéines de lait, en récupération de séances d'entraînement, majore les gains de masse musculaire et de force comparé à un apport de protéines de soja (Phillips et al. 2005, Hartman et al. 2007, Wilkinson et al. 2007). En effet, à l'issue d'un programme de 10 semaines d'entraînement en musculation, les participants supplémentés avec 500ml de lait écrémé juste après puis 1h après l'exercice (au total, 35g de protéines), ont augmenté leur masse maigre d'en moyenne 3,9 kg, contre 2,8kg pour le groupe supplémenté en protéines de soja (supplémentation isoénergétique et isoprotéique) et, 2,4kg pour le groupe contrôle, supplémenté d'une boisson glucidique isoénergétique (Hartman et al. 2007).

De manière associée à ces effets trophiques, la concentration plasmatique de leucine est supérieure après l'ingestion de lactosérum ou de lait par comparaison au soja (Wilkinson et al. 2007, Devries and Phillips 2015). Hartman et collaborateurs, soulignent effectivement l'existence d'une corrélation positive entre la concentration plasmatique de leucine et le gain de masse maigre (Hartman et al. 2007). Les protéines contenant plus d'acides aminés essentiels et de leucine sont donc favorables au gain de masse musculaire en réponse à un entraînement en musculation.

Dans ce contexte de mise à l'entraînement, il existe tout de même des études qui ne démontrent pas de différence sur le gain de masse musculaire, en comparant une supplémentation protéique de lactosérum à une supplémentation de protéines de soja (Candow et al. 2006) ou de protéines de riz (Joy et al. 2013). Dans cette dernière étude, la quantité de protéines administrée était de 48g, fournissant 5,5g et 3,8g de leucine pour la supplémentation en protéines de lactosérum et de riz, respectivement. Etant donné les quantités importantes

administrées, le seuil minimal de leucine (~3g) est atteint dans les deux cas. Ceci pourrait expliquer l'absence de différence entre les deux protéines ingérées (Moore et al. 2009).

Les auteurs concluent que lorsque la quantité de protéines administrée est importante, la qualité de celle-ci influe moins sur les réponses musculaires à un entraînement.

En résumé, les protéines les plus riches en AAE et en leucine (i.e. lait, lactosérum), permettant une meilleure disponibilité plasmatique en AAE et en leucine après leur ingestion, sont inductibles de gains de masse musculaires et de force supérieurs aux protéines d'origine végétale (i.e. soja). Une quantité d'apport supérieure limite les effets de la teneur en acides aminés de la protéine sur les réponses musculaires à un entraînement.

Vitesse d'absorption et biodisponibilité des acides aminés

Bien moins étudiées, seulement deux études ont évalué l'effet de la vitesse de digestion des protéines (i.e. lactosérum vs caséine), en réponse à un entraînement en musculation.

Cribb et al. (2006) ont mis en évidence des gains de masse musculaire et de force (à l'issue de 10 semaines d'entraînement) significativement majorés avec une supplémentation de protéines de lactosérum (au moment des repas et post-exercice), comparée à une supplémentation iso-azotée de caséine. En revanche, la seconde étude, ne démontre aucune différence entre l'ingestion avant et après l'exercice, de 24g de lactosérum ou de caséine, sur le gain de masse musculaire et de force, en réponse à un entraînement en musculation de 8 semaines chez les femmes (Wilborn et al. 2013).

L'absence de différence entre ces deux types de protéines pourrait résulter de l'ingestion de protéines en amont de la séance de musculation (Wilborn et al. 2013). En effet, celle-ci provoque une accumulation d'acides aminés plasmatiques pendant et après l'exercice. Comme nous l'avons vu précédemment, cette hyperaminoacidémie pourrait inhiber les effets potentiels de l'apport de protéines de lactosérum après l'exercice (pour revue, Devries and Phillips 2015).

Dans le cadre d'un entraînement, les travaux ayant étudié l'effet de la vitesse de digestion et d'assimilation des acides aminés sont rares. En s'appuyant sur les caractéristiques des protéines de lactosérum - délivrant des acides aminés rapidement après leur ingestion - les auteurs de plusieurs revues de questions concluent que, ces protéines, ont un rôle particulièrement avantageux en récupération de séance de musculation, afin de maximiser le gain de masse musculaire (Hulmi et al. 2009, Devries and Phillips 2015, Morton et al. 2015, Naclerio and Larumbe-Zabala 2016).

En résumé, la supériorité des protéines de lait et de lactosérum comparées aux protéines de soja est relativement bien admise, tant dans les études menées à l'issue d'un exercice unique que dans le cadre d'un entraînement. Ainsi, il semblerait que les protéines de lactosérum ou de lait ingérées en récupération de séances de musculation soient les plus efficaces sur la majoration du gain de masse musculaire (pour revue, Devries and Phillips 2015). Mais aujourd'hui, aucune étude n'a comparé les effets - sur le gain de masse musculaire et de force - d'une supplémentation en protéines de lactosérum comparé aux protéines du lait. Autrement dit, en l'état actuel des connaissances, il manque des études ayant étudié le bien-fondé de la vitesse d'assimilation des protéines (protéine sous forme liquide vs solide ; protéine de lactosérum vs lait) sur les réponses musculaires à un entraînement en musculation.

3.2. Quantité de protéines à privilégier dans le cadre d'un entraînement en musculation

Pas d'étude dose-réponse dans le cadre d'un entraînement en musculation

Il existe aujourd'hui, un consensus concernant la quantité de protéines optimale à ingérer. Cependant, celui-ci a été émis à partir d'études réalisées à la suite d'un exercice unique. La quantité optimale se situerait entre 20 et 25g de protéines ou 0,24g/kg de poids de corps, correspondant à un apport de ~8 à 15g d'AAE et ~1,8 à 3,3g de leucine (pour revue, Reidy and Rasmussen 2016). La quantité de protéines demeure importante puisque la prise de BCAA ou de leucine seule n'est pas suffisante à l'induction de l'hypertrophie musculaire (Aguiar et al. 2017). Néanmoins, cette quantité optimale n'a pas été redéfinie dans un contexte d'entraînement en musculation.

Effet potentiel de l'entraînement sur la modification de la quantité optimale d'apport en protéine

Pourtant il semblerait qu'avec l'entraînement, les synthèses de protéines sont plus élevées au repos et potentiellement après l'exercice (4h après), mais moins durable (Tang et al. 2008 ; Figure 27). Ces données expérimentales semblent indiquer que les quantités nécessaires lors d'un entraînement en musculation ou pour des sportifs entraînés en musculation, pourraient potentiellement être inférieures aux recommandations actuellement acceptées, avec cependant, des besoins plus fréquents.

La question de savoir si les individus entraînés en musculation ont des besoins quantitatifs différents comparés aux sujets non-entraînés reste d'actualité.

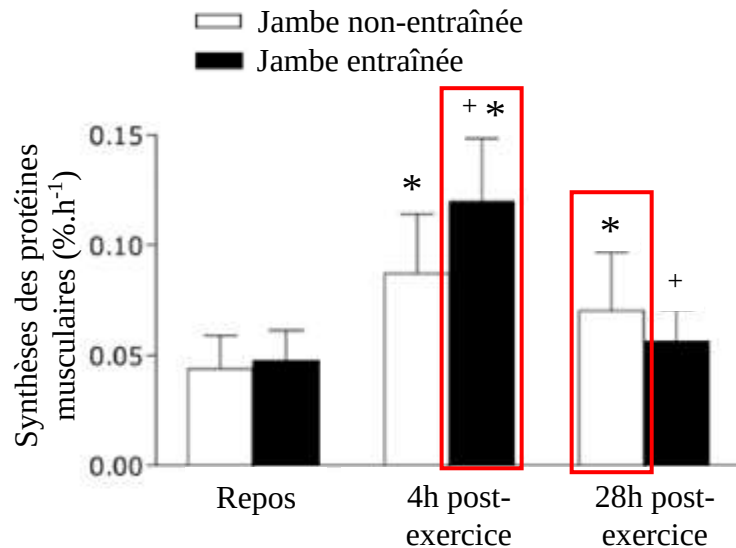


Figure 27. Synthèses des protéines musculaires au repos, 4h et 28h post-exercice, pour la jambe entraînée en musculation (noir) et non-entraînée (blanc). *, significativement différent de l'état de repos pour la même jambe ($p < 0,01$). +, significativement différent de la jambe non-entraînée ($p < 0,01$). Valeurs exprimées en moyenne $\pm$ SD. ($n = 10$ hommes). (Tang et al. 2008)

Théorie du changement

Par ailleurs, Bosse et Dixon ont proposé la « théorie du changement », qui stipule que le gain de masse musculaire - en réponse à un entraînement et une supplémentation protéique - résulte principalement d'un changement marqué des habitudes d'apports en protéines. Ainsi, plus qu'une quantité optimale définie et figée, ces auteurs suggèrent que le stimulus permettant de maximiser le gain de masse musculaire serait une prise protéique bien supérieure aux habitudes du sportif (Bosse and Dixon 2012). D'après leur analyse, cette théorie serait valable lorsque les apports protéiques sont initialement bas (i.e. 1g/kg/J). L'effet de l'augmentation de l'apport protéique - sur les réponses hypertrophiques à un entraînement - lorsque les apports protéiques habituels sont élevés (i.e. 1,5 à 2g/kg/J) demeure une question ouverte (Bosse and Dixon 2012).

Pour conclure, alors que la quantité de protéines nécessaire - pour augmenter de manière maximale les synthèses protéiques - en récupération d'une séance unique de musculation a bien été étudiée, cette question reste peu abordée dans un contexte d'entraînement en musculation. En particulier, l'influence du niveau d'entraînement sur ces besoins mérite d'être approfondie.

3.3. Moments d'apports à privilégier dans le cadre d'un entraînement en musculation

Le moment d'apport en protéines est considéré comme un élément important, afin d'optimiser les réponses adaptatives du muscle à l'entraînement (Phillips and Van Loon 2011). Il est généralement admis, que l'apport de protéines après l'exercice permet de bénéficier d'un maximum de profit de la « fenêtre anabolique », se traduisant par une augmentation maximale des synthèses de protéines (Burke et al. 2012). Cependant, l'étude de cette stratégie, dans le contexte d'un programme d'entraînement, donne des résultats divergents. Dans cette partie, seront décrites les seules études - actuellement disponibles dans la littérature scientifique - ayant investigué l'effet du moment d'apport en protéines sur les adaptations musculaires dans le cadre d'un entraînement en musculation.

Intérêt de l'apport en protéines à proximité de la séance de musculation

Dans le cadre d'un entraînement en musculation, l'apport protéique à proximité de la séance serait favorable à l'augmentation de la masse musculaire et de la force (Cribb and Hayes 2006). En effet, les auteurs ont démontré qu'une supplémentation protéique de 1g/kg, prise juste avant et après la séance (i.e. stratégie d'apport rapprochée de la séance), induit des gains de masse musculaire (évalués par DEXA et CSA) et de force anisométrique (1 RM) supérieurs, comparée à la même supplémentation, mais prise à distance de l'exercice de musculation (i.e. matin et soir, stratégie d'apport éloignée de 5h de la séance de musculation). Notons cependant, que la supplémentation, dans cette étude, contenait de la créatine. Pour un homme de 80kg, chaque prise (deux par jour) fournissait 32g de lactosérum, 34,4g de glucides et 5,6g de créatine. Ces adaptations musculaires peuvent donc être le résultat de l'ingestion de créatine en plus de l'apport protéique.

Ce type de protocole a été réitéré par Hoffman et al. (2009), où les auteurs ont testé l'effet du moment d'apport de 42g de protéines par prise. Celles-ci étaient consommées soit avant et après la séance de musculation (stratégie « pre-post »), soit le matin et le soir. En accord avec les résultats de l'étude précédente, la force maximale anisométrique (1 RM au développé-couché) est supérieure pour le groupe supplémenté en « pre-post » comparé à l'autre groupe. Cependant, le gain de masse musculaire (évalué par DEXA) n'est pas impacté par le moment d'apport des protéines. Dans cette étude, une limite non négligeable a été identifiée par les auteurs. Bien qu'il fût demandé aux participants de maintenir leurs habitudes alimentaires, les apports énergétiques des sujets du groupe « pre-post » ont diminué pendant le protocole

d'entraînement (-3,7Kcal/kg/J). Or, un apport énergétique suffisant favorise l'hypertrophie des muscles squelettiques (pour revue, Stark et al. 2012). Dans ce contexte, les auteurs n'excluent pas l'hypothèse selon laquelle des apports énergétiques maintenus et suffisants auraient pu modifier ces résultats (Hoffman et al. 2009).

A travers une méta-analyse, Schoenfeld et al. (2013) illustrent que l'apport exogène de protéines le plus rapproché possible de la séance de musculation (avant et/ou après), influence positivement le gain de masse musculaire. Cependant, l'effet est caractérisé de « petit » (Effect Size $0,24 \pm 0,10$) (Schoenfeld et al. 2013).

Malgré un faible effet, il semblerait donc que l'apport en protéines à proximité de la séance de musculation, majore les adaptations musculaires à un entraînement.

Apport en protéines avant ou après la séance de musculation ?

Une seule étude a comparé les variations de la masse musculaire et de la force avec une supplémentation de 25g de lactosérum prise, soit immédiatement avant, soit immédiatement après la séance de musculation (Schoenfeld et al. 2017). Les auteurs ont mis en évidence une augmentation de la masse maigre (déterminée par DEXA) et de la force maximale (par 1RM) après les 10 semaines d'entraînement, sans différence entre les deux groupes. Schoenfeld et collaborateurs, concluent qu'une supplémentation protéique permet de maximiser les gains de masse musculaire, mais que le moment d'apport (i.e. juste avant ou juste après l'entraînement) ne constitue pas un facteur déterminant de l'hypertrophie musculaire (Schoenfeld et al. 2017).

Dans leur revue de littérature, Schoenfeld et al. (2013) concluent qu'ils manquent de preuves concrètes pour confirmer l'existence « d'une étroite fenêtre anabolique » après l'exercice de musculation.

Ainsi, dans le cadre d'un entraînement en musculation, la prise de protéines avant ou après la séance de musculation n'impacte pas différemment les réponses musculaires à cet entraînement. Ces résultats sont en accord avec les données expérimentales d'études réalisées à la suite d'un exercice unique de musculation (Partie 2.3).

Apport protéique avant le coucher

Enfin, la prise de caséine avant le coucher semble limiter la baisse de la protéosynthèse pendant la nuit, résultant ainsi en une balance synthèses/dégradations positive lors de cette période (Res et al. 2012).

Aujourd'hui, une seule étude, a confirmé l'efficacité de cette stratégie - dans le cadre d'un entraînement en musculation - sur les gains de masse musculaire et de performance en force (Snijders et al. 2015). Dans le cadre d'un entraînement de 12 semaines, réalisé le soir (entre 20h et 22h), la prise de 27,5g de caséines 30 minutes avant le coucher a permis de majorer les gains de masse musculaire et de force comparé à un apport placebo. Les auteurs de cette étude suggèrent donc, qu'à l'entraînement, la prise de caséine avant le coucher serait une stratégie efficace afin d'optimiser le gain de masse musculaire et de force.

Cependant, dans cette étude il fût comparé une supplémentation de 27,5g de caséine à un placebo (0kcal). Il en résulte un apport protéique quotidien supérieur pour le groupe supplémentalé, comparé au groupe placebo. Compte tenu de ces conditions expérimentales, il est difficile de savoir si les bénéfices de l'apport en caséine sont liés à une disponibilité en acides aminés permettant de prolonger les effets spécifiques de l'exercice de musculation sur la protéosynthèse ; s'ils sont liés à une disponibilité en composés azotés pendant les premières heures de la nuit, permettant ainsi de maintenir un niveau de protéosynthèse susceptible d'entretenir l'anabolisme (ou de réduire l'état catabolique musculaire) ; ou s'ils sont liés à des apports azotés supérieurs. Par ailleurs, l'apport de 54g de caséines le matin ou 90 minutes avant le coucher, n'a pas impacté différemment les réponses musculaires chez des hommes et des femmes régulièrement entraînés en musculation (Antonio et al. 2017).

La question qui se pose quant à la supériorité de l'apport de protéines lentes (caséines) avant le coucher, comparé à un autre moment de la journée, mérite à ce jour, d'être clarifiée (pour revue, Trommelen and van Loon 2016).

La prise de caséine avant le coucher pourrait être bénéfique à l'augmentation de la masse musculaire. Cependant, en l'état actuel des connaissances, aucune étude ne dispose du protocole expérimental permettant d'évaluer le rôle joué par ce moment d'apport précisément comparé à un autre moment, lors de la récupération de séances de musculation.

En résumé, les études réalisées dans un contexte d'entraînement en musculation restent peu nombreuses et peu univoques. Actuellement, il est donc difficile de définir les moments d'apports opportuns des protéines, sur les réponses musculaires à un entraînement. Il semblerait que les moments favorables à l'hypertrophie se situent avant et/ou après la séance de musculation. L'ingestion de protéines lentes (du type « caséines ») avant le coucher semble majorer la prise de masse musculaire. Cependant, les conditions optimales (moment d'apport) d'ingestion de ce type de protéines (à absorption lente) nécessitent d'être précisées. Enfin, dans le cadre de l'entraînement, la fréquence optimale d'apports en protéines n'a pas été confirmée. Ainsi, l'impact des moments d'apports en protéines sur les adaptations musculaires à un entraînement reste encore à éclaircir.

3.4. Pertinence de l'association de protéines avec d'autres macronutriments dans le cadre d'un entraînement en musculation

Co-ingestion avec des glucides

La co-ingestion de glucides avec les protéines en récupération d'une séance de musculation peut majorer les synthèses protéiques et diminuer la protéolyse, lorsque l'apport en protéines n'est pas suffisant (Bird et al. 2006).

Ces résultats sont confirmés, par la même équipe de chercheurs, dans le cadre d'un programme d'entraînement de 12 semaines. Au niveau musculaire, l'apport combiné de glucides et de 6g d'acides aminés essentiels, permet d'augmenter la CSA des fibres musculaires de type II, de manière plus importante que la consommation de glucides ou d'acides aminés seuls (Bird et al. 2006).

La question de savoir si l'ajout de glucides reste bénéfique, lorsque la quantité de protéines est suffisante, se pose. Une seule étude récente permet de répondre à cette question. Dans ce travail, 68 jeunes hommes profanes en musculation ont pris part à un protocole d'entraînement de 12 semaines et ont été affectés par randomisation dans 3 groupes distincts : un groupe recevant 30g de protéines de lactosérum après chaque entraînement, un groupe recevant 34,5g de maltodextrine et un groupe ingérant un mélange de 30g de lactosérum et de 34,5g de maltodextrine (Hulmi et al. 2015). Les auteurs ont rapporté une augmentation significative de la masse maigre pour les deux groupes supplémentés en protéines, comparés au groupe recevant des glucides. Cependant, l'ajout de glucides aux 30g de lactosérum ne permet pas de majorer les gains de force, de CSA ni de masse maigre, comparé à une supplémentation en protéine seule.

Le résultat le plus probant concerne les modifications de la masse grasse. En effet, les auteurs ont constaté une perte de masse grasse de ~1,5kg pour le groupe supplémenté en protéines, ce qui est significativement plus important que le groupe supplémenté uniquement en glucides (~0Kg), avec une tendance comparée au groupe protéino-glucidique (perte de ~0,75kg en moyenne), sans pour autant de différence statistique (Hulmi et al. 2015).

En résumé, il semblerait que, lorsque l'apport de protéines est suffisant, l'addition de glucides ne permet pas de majorer les réponses musculaires à un entraînement, et ce malgré l'augmentation de la réponse insulinaire. Ces résultats sont en accord avec les données des études réalisées à la suite d'un exercice unique de musculation (Partie 2.4). L'apport en glucides aurait même un effet négatif, puisqu'il limiterait l'oxydation métabolique des acides gras et limiterait ainsi la baisse de masse grasse.

Co-ingestion avec des lipides

L'effet de l'ingestion de lipides au cours d'un entraînement en musculation n'a pas été étudié. Probablement parce que les études conduites dans les suites d'un exercice unique n'émettent pas d'hypothèse plausible sur l'intérêt potentiel d'une telle stratégie sur le gain de masse musculaire.

Dans le cadre d'un entraînement en musculation, lorsque la quantité de protéines ingérée post-exercice est suffisante, la co-ingestion avec des glucides ne permet pas de maximiser les réponses musculaires à cet entraînement (masse musculaire et force). L'intérêt d'un apport complémentaire en lipides dans le cadre d'un entraînement en musculation n'a pas été étudié, faute d'hypothèse plausibles à ce jour.

3.5. Synthèse des connaissances et applications pratiques

Les études réalisées à l'issue d'un exercice unique, ne reflètent pas toujours les adaptations musculaires à un entraînement en musculation (Mitchell et al. 2014). Les stratégies d'optimisation d'apports en protéines doivent donc être étudiées dans le cadre d'un entraînement en musculation. Dans le contexte d'entraînement, les recherches restent rares. Aujourd'hui, les connaissances émises par ces études sont décrites ci-dessous.

- La supplémentation en protéines de lait ou de lactosérum majore le gain de masse musculaire comparé à une supplémentation iso-azotée de soja ou de caséine.
- La quantité de protéines optimale à ingérer à l'issue de la séance, peut être modifiée par l'entraînement. Or, celle-ci n'a pas été réévaluée dans le cadre spécifique de l'entraînement en musculation. La quantité optimale déterminée à l'issue d'un exercice unique, semble être aujourd'hui, transposée dans le contexte d'entraînement.
- La prise de protéines à proximité de la séance semble maximiser les réponses musculaires à l'entraînement. Cependant, un apport protéique avant ou après la séance, se traduit par des gains hypertrophiques similaires. Malgré ces résultats, d'un point de vue pratique, la prise de protéines immédiatement après la séance est préconisée (Phillips and Van Loon, 2011). La fréquence d'apport n'a pas été étudiée dans le cadre d'un entraînement en musculation. De plus, dans un

contexte d'entraînement, il manque de preuves, justifiant la prise de protéines avant le coucher.

- Lorsque l'apport protéique en récupération de séance est suffisant (i.e. 20-25g), l'ingestion de glucides n'est pas nécessaire.

OBJECTIFS DU TRAVAIL

Il demeure un certain nombre de questions en suspens, concernant l'optimisation de l'apport en protéines dans le cadre d'un entraînement en musculation. Au niveau musculaire, l'objectif final étant d'augmenter l'hypertrophie et la performance en force, il est donc essentiel de retenir principalement les données obtenues dans le contexte de répétition d'exercices. Nos deux études sont réalisées dans le contexte d'un entraînement en musculation de 6 à 9 semaines, à raison de 4 séances par semaine, chez de jeunes sportifs déjà entraînés en musculation. **L'objectif principal de cette thèse est d'évaluer les effets hypertrophiques induits par différents suppléments protéiques, susceptibles d'influencer les réponses musculaires (masse musculaire et force) à un entraînement en musculation.**

Objectif 1 - Protéines de lactosérum avec ou sans caséine en récupération immédiate de séances de musculation ?

Les effets complémentaires des protéines de lactosérum (effet rapide) et de caséines (effet retardé) sur les synthèses protéiques, ont été mis en évidence à l'issue d'un exercice unique. En revanche, les effets de ces mêmes protéines dans le cadre d'un entraînement en musculation sont à ce jour peu connus.

L'objectif de notre première étude est d'évaluer, s'il existe, le rapport optimal entre protéines rapides et protéines lentes contenu dans la boisson de récupération, afin d'optimiser les réponses musculaires à un entraînement en musculation de 9 semaines.

Objectif 2 – Effets et moment d'apport optimal de la caséine, est-ce 3h après la séance de musculation ou avant le coucher ?

L'hypothèse selon laquelle l'ingestion de caséines avant le coucher pourrait représenter une stratégie efficace pour favoriser le gain de masse musculaire et de force a récemment été investiguée. Afin de pouvoir conclure sur la réelle efficacité d'un apport en caséine avant le coucher dans le cadre d'un entraînement en musculation, il convient de comparer une même supplémentation en caséines prise soit avant le coucher, soit à un autre moment dans la journée. Une telle investigation permettrait d'identifier clairement le rôle joué par ce moment d'apport.

Le deuxième volet du travail de thèse, a pour objectif d'évaluer l'effet et le moment optimal de l'apport en caséines, sur les réponses musculaires à un entraînement en musculation de 6 semaines.

CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE

CONTRIBUTION SCIENTIFIQUE MANUSCRIT 1

Contexte et objectif de l'étude

L'augmentation de la masse musculaire résulte du déséquilibre en faveur des synthèses par rapport aux dégradations des protéines des muscles squelettiques. Les réponses des synthèses protéiques à la suite d'un exercice de musculation sont largement déterminées par le mode de contraction, la charge et l'intensité de cet exercice (Atherton and Smith 2012), mais aussi par la disponibilité plasmatique en acides aminés essentiels et en leucine (Kimball and Jefferson 2006). Aujourd'hui, de nombreuses études montrent que la période précoce post-exercice semble être un moment optimal pour ingérer des protéines, augmenter la disponibilité en acides aminés et majorer l'intensité et la durée de l'élévation des synthèses protéiques (Levenhagen et al. 2001).

La disponibilité plasmatique des acides aminés diffère en fonction de la digestibilité des protéines, du type de protéines et de la vitesse de digestion (Dangin et al. 2002, Wilkinson et al. 2007, Tang et al. 2009). L'ingestion de protéines de lait comparées aux protéines de soja induit une majoration des synthèses protéiques, se traduisant, dans ce cas, par une augmentation de la masse musculaire après un entraînement en musculation de plusieurs semaines (Hartman et al. 2007, Wilkinson et al. 2007). Cependant, le lait contient deux types de protéines, les protéines solubles du lait, dites « protéines rapides » (appelées également protéines de lactosérum ou whey) et la caséine, dite « protéine lente ». Cette dénomination « rapide » et « lente » est basée sur la vitesse de digestion et d'absorption des acides aminés composant ces deux types de protéines. Les synthèses protéiques, à la fin de l'exercice, sont plus stimulées par l'ingestion de lactosérum comparée à la caséine (Tang et al. 2009). Par ailleurs, quelques études suggèrent que l'ingestion de caséine induit une inhibition d'environ 30% des dégradations des protéines de l'ensemble du corps (Boirie et al. 1997, Dangin et al. 2002). Il semblerait donc que le lactosérum et la caséine ont différents devenir et utilisations métaboliques, qui pourraient avoir des effets complémentaires sur la synthèse des protéines, la protéolyse et donc l'accrétion des protéines post-exercice.

L'efficacité de la supplémentation en protéines sur les réponses musculaires à un entraînement en musculation a été étudiée dans le cadre d'une méta-analyse (Cermak et al. 2012). Dans cette méta-analyse, 22 études randomisées ont été comparées et incluent 680 participants. Comparée à une supplémentation placebo (apport glucidique iso-calorique ou non

iso-calorique), la supplémentation en protéines induit une augmentation significative des gains de masse musculaire et de force. Parmi ces études, neuf d'entre elles ont été incluses dans une seconde méta-analyse dont l'objectif était de comparer l'effet du lactosérum (seule ou associée avec d'autres ingrédients) avec d'autres stratégies nutritionnelles, telles qu'un apport glucidique ou d'autres sources de protéines, sur la composition corporelle et les performances musculaires (Naclerio and Larumbe-Zabala 2016). Ils ont montré que la supplémentation avec les protéines de lactosérum améliore les réponses musculaires (masse musculaires et force), après l'entraînement en musculation, comparée à la supplémentation iso-énergétique glucidiques ou protéiques contenant d'autres sources de protéines. En l'état actuel des connaissances, une étude seulement a comparé les effets d'une supplémentation en lactosérum seule ou de la caséine seule, après un entraînement en musculation de 10 semaines, chez l'homme jeune (Cribb et al. 2006). Les résultats de cette étude indiquent que la supplémentation avec la protéine de lactosérum induit des gains de masse musculaire et de force plus prononcés comparée à la prise de caséine. Cependant, en dépit des rôles respectifs potentiellement complémentaires de la protéine de lactosérum et de caséine sur la modulation de la masse musculaire, aucune étude n'a, à ce jour, directement comparé les réponses musculaires à la suite d'un entraînement en musculation, comprenant une supplémentation protéique de différentes compositions en protéines de lactosérum et en caséine.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude randomisée en double aveugle était d'examiner les effets de différents suppléments de récupération post-exercice, variant de par leur contenu en protéines de lactosérum et de caséine, sur les réponses musculaires à un entraînement en musculation de 9 semaines.

Nous émettions l'hypothèse qu'une combinaison de protéines de lactosérum et de caséine pouvait majorer les réponses musculaires à un entraînement en musculation, comparée à la prise de protéines de lactosérum uniquement.

Afin de tester cette hypothèse, les participants ont consommé une boisson apportant 20g de protéine immédiatement après chaque séance de musculation, contenant soit uniquement des protéines rapides (100% de protéines rapides, boisson FP(100)), soit un mélange équivalent entre protéines rapides et protéines lentes (50/50, boisson FP(50)), ou le rapport entre protéines rapides et protéines lentes contenu dans le lait (20/80, boisson FP(20)).

Article - Effects of post-exercise protein intake on muscle mass and strength during resistance training: is there an optimal ratio between fast and slow proteins ?

Marina Fabre¹, Christophe Hausswirth², Eve Tiollier¹, Odeline Molle¹, Julien Louis³, Alexandre Durguerian⁴, Nathalie Neveux⁵, Xavier Bigard^{1, 6}

¹ Laboratory « Sport, Expertise, Performance » EA 7370
French National Institute of Sport, Expertise and Performance (INSEP)
Paris, France.

² Laboratory LAMHESS, EA 6312
University of Nice Sophia Antipolis
Nice, France.

³ Research Institute of Sport and Exercise Sciences (RISES),
University of Liverpool John Moores.

⁴ Research Department, French Rugby Federation (FFR),
Marcoussis, France.

⁵ Biochemistry Services, Hospital Cochin
AP-HP, Hospital University Paris Center, and Nutrition Laboratory, EA 4466
University Paris Descartes,
Paris, France.

⁶ French Anti-doping Agency (AFLD)
Paris, France.

Running title: Fast/Slow protein intake and resistance training

Journal : *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*

Date d'acceptation : 7 avril 2017

Address for correspondence:

Marina Fabre
French National Institute of Sport (INSEP)
11 Avenue du Tremblay
75012 Paris
France
Email: marina.fabre@insep.fr
Tel: +33 141744138

Abstract

Effects of post-exercise protein intake on muscle mass and strength during resistance training: is there an optimal ratio between fast and slow proteins ?

While effects of the two classes of proteins found in milk (i.e. soluble proteins, including whey, and casein) on muscle protein synthesis have been well investigated after a single bout of resistance exercise (RE), the combined effects of these two proteins on the muscle responses to resistance training (RT) have not yet been investigated. Therefore, the aim of this study was to examine the effects of protein supplementation varying by the ratio between milk soluble proteins (fast-digested protein) and casein (slow-digested protein) on the muscle to a 9-week RT program.

In a double-blind protocol, 31 resistance-trained men, were assigned to 3 groups receiving a drink containing 20g of protein comprising either 100% of fast protein (FP(100), n=10), 50% of fast and 50% of slow proteins (FP(50), n=11) or 20% of fast protein and 80% of casein (FP(20), n=10) at the end of training bouts. Body composition (DXA), and maximal strength in dynamic and isometric were analyzed before and after RT. Moreover, blood plasma aminoacidemia kinetic after RE was measured.

The results showed a higher leucine bioavailability after ingestion of FP(100) and FP(50) drinks, when compared with FP(20) ($p<0.05$). However, the RT-induced changes in lean body mass ($p<0.01$), dynamic ($p<0.01$), and isometric muscle strength ($p<0.05$) increased similarly in all experimental groups.

To conclude, compared to the FP(20) group, the higher rise in plasma amino acids following the ingestion of FP(100) and FP(50) did not lead to higher muscle long-term adaptations.

Key words: Milk soluble protein and Casein; Lean Body Mass; Isometric and dynamic muscle strength.

Introduction

Changes in muscle mass result from imbalances between muscle protein synthesis (MPS) and breakdown (MPB). The acute effects of resistance exercise on MPS are largely determined by the mode of contraction, the exercise workload and intensity (Atherton et al. 2012), but also by the availability of essential amino acids (EAA) and leucine (Kimball and Jefferson 2006). There is now a lot of experimental evidence showing that the acute period post-exercise appears to be an optimal time to ingest protein, increase AA bioavailability, and enhance the magnitude and duration of the rise in MPS (Esmarck et al. 2001, Levenhagen et al. 2001, Pennings et al. 2011).

The AA bioavailability differs according to the rate of protein digestion, the type of protein and its digestion kinetics (Dangin et al. 2001, Wilkinson et al. 2007, Tang et al. 2009). Greater rates of MPS were observed after milk ingestion than after soy ingestion at the end of resistance exercise (Wilkinson et al. 2007). However, milk contains two protein fractions, milk soluble protein and casein, characterized as “fast” and “slow” proteins, respectively, based on their digestion rate and speed of AA absorption. Whey protein at the end of resistance exercise stimulates MPS to a greater extent than casein (Tang et al. 2009; Pennings et al. 2011), but a few studies suggested that casein ingestion inhibited whole body protein breakdown by approximately 30% (Boirie et al. 1997; Dangin et al. 2002). Taken together, these studies suggest that whey and casein have different metabolic fates and uses that could have complementary effects on MPS, MPB and protein deposition.

However, the practical applications of these results remain limited since successive sessions of resistance exercise are required to lead to measurable muscle hypertrophy. A meta-analysis examined the efficacy of protein supplementation on the muscle responses to RT (Cermak et al. 2012). In this review, data that were included from 22 randomized controlled trials (RCT) that included 680 subjects. It was shown that compared with either isocaloric or non-isocaloric placebo, protein supplementation significantly augmented the gain of lean mass and improved the gain in muscle strength in response to prolonged RT. Nine RCTs were included in a second meta-analysis that compared the effects of whey protein (alone or as part of a multi-ingredient) with those of other interventions such as carbohydrates or other protein sources, on body composition and muscle performances (Naclerio et al. 2016). It was shown that whey protein improved the responses of lean body mass, as well as muscle strength after RT, compared with subjects ingesting isoenergetic supplements containing carbohydrates or

other sources of proteins. To our knowledge, only one study compared the effects of whey alone with those of casein alone after 10 weeks of RT (Cribb et al. 2006). In this study, the supplementation with whey protein was associated with a greater gain in lean mass and improvement in strength, than with casein. However, despite the potential respective roles of whey and casein proteins on skeletal muscle protein balance, to date no study has directly compared muscle responses to RT with the consumption of supplements with differing compositions in whey and casein proteins.

The aim of this randomized and double-blind trial was to examine the effects of different post-exercise supplements varying by their milk soluble protein and casein ratio, on muscle responses to 9 weeks of RT. Given the expected complementary effects of whey and casein on protein deposition, we aimed to test the hypothesis of whether the muscle responses to RT were affected by the plasma availability of amino acids derived from dietary proteins in post-workout supplements. To test this hypothesis, subjects consumed isonitrogenous protein drinks immediately following every training bout, containing, either only fast dietary protein, a mix of equal amounts of fast and slow proteins, or the ratio of fast-to-slow proteins found in milk (i.e. 20/80).

Methods

Subjects

Thirty one healthy young (19-35 years) recreational resistance trained men participated in the study. The subjects were randomly assigned to supplements with 20 g of milk soluble proteins (FP(100), n=10), 10 g of milk soluble and 10 g of casein proteins (FP(50), n=11), or 4 g of milk soluble and 16 g of casein proteins (FP(20), n=10). They were all non-smokers and had no musculoskeletal disorders likely to affect their ability to respond to RT. Subjects who were allergic to milk protein, lactose intolerant or who had taken any protein supplementation during the last year were not included in the study. The protocol complied with the guidelines set by the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 1983, and was approved by the local Ethics Committee (Paris IDF VI, France).

Experimental design

This was a randomized, and double-blind study in which each participant completed all treatments serving as his own control. The subjects were first familiarized with the RT during a three-week preparatory period. Subjects exercised three times per week without consuming the recovery beverage, in order to standardize their training status. After this preparatory period, subjects started the actual RT program, supplemented with the nutritional beverage assigned. They all completed 9 weeks of the supervised RT. Each subject received a recovery drink to be consumed within 15 minutes after the end of each RT session. The ingestion of the recovery beverages was supervised. The participants were asked not to eat or drink anything (except water) during training sessions and until 3 hours after having consumed the supplement. The three recovery drinks differed only by the ratio between fast (milk soluble proteins) and slow proteins (casein). Body composition and strength changes to RT and recovery drinks were tested at inclusion (PRE), then every three weeks (Wk-3, Wk-6) and at the end of RT (POST). All tests were conducted 48 hours after the last training session.

Resistance Training

Whole-body RT started after the preparatory period. This familiarization period lasted 3 weeks with 3 training per week. The program consisted in the same exercises that were undertaken for the intensive 9 weeks program; subjects performed 2 sessions per week with lower and upper body resistance exercises and 1 session with upper body exercises only, which are described below. The only difference with sessions included within the training program was the workload of each exercise which was determined at 50-60% of 1RM. Thereafter, subjects started the 4 times a week RT. The participants trained on Monday, Tuesday, Thursday and Friday between 4pm and 7pm for a total of 9 weeks. During the training program, Monday and Thursday sessions mixed lower and upper body training consisting of back squats, leg extension and leg curl for the lower body, and bench press, lying triceps extension, inclined barbell press, dumbbell press, and dumbbell curls for the upper body. On Tuesdays and Fridays, participants completed an upper body session focused on biceps, back and shoulders exercises such as bent over row, lat pull down, cable row, biceps barbell curls, hammer dumbbell curls, and dumbbell press. It was divided into 3 blocks, each consisting of 3 different weeks with mainly sets of 10-12 repetitions with 70-75% of 1 RM the first week, 8-10 repetitions with 75-80% of 1 RM, the second week, and 6-8 repetitions with higher loads such as 80-85% of 1 RM the third week. The 1-RM values were determined every 3 weeks, and then the relative intensity of resistance sessions was adjusted accordingly. This RT program was elaborated to develop

both hypertrophy (10-12 repetitions) and maximal strength (6-8 repetitions), which is in line with the American College of Sports Medicine position stand recommendations of progression models in RT (Kraemer et al., 2002).

Protein supplementation

The protein supplements were presented in the form of chocolate flavored mixed powder, packaged in individual unidose sachets, and identified with the randomization number. These nutritional supplements were to be consumed in the form of drinks reconstituted in 250 ml of water. The supplements were manufactured by the company TRIBALLAT-Nutrisun (La Galmandière - 35220 Châteaubourg - France).

The drinks were isoenergetic (167 kcal) and all composed of 20 g proteins, 20 g carbohydrate (50/50; Glucose/Maltodextrin), and 0.5 g fat. The protein composition varied according to the “fast /slow” proteins ratios: 100/0, 50/50, 20/80 respectively for the groups FP(100), FP(50) and FP(20). The participants were asked to drink the protein beverage within the 15 minutes after the end of each training session.

Diet control

Before the preparatory, participants were asked to complete a one-week food diary. Their nutritional intakes of proteins, carbohydrates and lipids were estimated at each meal and snack during the day. According to their habitual nutritional intake, they had a nutritional program in which protein intake varied between 1.5 and 2g/kg/day, including a standardized meal in the evening, which had to be taken at least 3 hours after the protein supplement. During the 9 weeks of RT, each participant had to complete a food diary 2 days-a-week on training days. Food diary was debriefed with a nutritionist. Energy, protein, carbohydrate and lipid intakes before and during the follow-up period were calculated for each meal using dietary-analysis based on information from the French database of food composition sources (CIQUAL, 2013).

Body composition

Body weight, fat mass and lean body mass were measured using dual energy X-ray absorptiometry (DXA, dual-energy X-ray absorptiometry, General Electrics, Madison, USA).

Body composition was measured at the end of the preparatory period (PRE) and every 3 weeks until the end of the RT (wk-3, wk-6 and POST). These measurements were always performed in standardized conditions, on the morning, the subjects in a fasted state.

Muscle performances

Every 3 weeks, 48 h after the last RT session, dynamic muscle strength was assessed using a 3 RM technique in back squat and 1 RM in bench-press. The first set of 10 repetitions with a light initial load was used as a warm up. Thereafter, the load was increased until maximal effort was achieved. To validate the maximal load in back squat the leg had to be at 90° from the ground. For the bench press, the bar had to touch the chest and the bottom had to touch the bench. Participants had 3 attempts, with 3 to 5 minutes rest between each try. The performance of the last test (3 weeks before) had to be confirmed at the first try. According to the difficulty perceived during this first try, the participants chose to increase the load by 2.5 or 5kg for the 2 following tries.

Moreover, isometric muscle strength was measured before and after RT. Maximal isometric strength was assessed for lower and upper body at a 90°C position for knee and elbow flexors and extensors on an isokinetic dynamometer (Con-Trex Multi-Joint System, Dübendorf, Switzerland). Maximal voluntary contraction (MVC) was assessed three times at one minute-interval rests. If the last try was much better (more than 20N/m) than the two first tries, another MVC was conducted so as to make sure that the highest performance was achieved. Finally, after 10 minutes of rest, participants had to perform a leg resistance test to fatigue consisting in 30 isokinetic repetitions in flexion and extension at a maximal voluntary force with their dominant leg on the isokinetic dynamometer. Muscle fatigue was estimated as a difference between the average of the two first contractions and the average of the two last contractions.

Plasma amino acid

Plasma amino acid (AA) concentrations were measured at different time-points, immediately after RT session, and 30, 60 and 120 min after ingestion of the protein supplement. Blood samples were collected into 5-ml lithium heparin blood-collection tubes and preserved on ice until the last sample was collected. Within 10 min after the end of the blood sampling, the tubes were centrifuged at 4,500 rpm for 10 min at 4°C. The plasma supernatant was separated, and samples stored in 2-ml Eppendorf tubes at -80°C until further analysis. Plasma

AA were measured by ion exchange chromatography with ninhydrin detection after dilution of the samples with a lithium citrate buffer containing D-glucosaminic acid and amino-ethylcysteine as internal standards, using an AA analyzer (AminoTac, JLC-500/V, Jeol, Tokyo, Japan). Areas under the curve (AUC) were measured.

Statistical analysis

All data was analyzed using two-factor repeated-measures ANOVA to examine the global effects of time and supplement, and time x supplement interaction. If any main effects were observed, a Newman-Keuls post-hoc procedure was used to locate where differences occurred. Paired Student's t tests using the Holm-Bonferroni adjustment, were used to ascertain between-group differences in AUC data. Values are presented as means $\pm$ SD and statistically significant differences were accepted when $p < 0.05$.

Results

Subjects and dietary intakes

All subjects' characteristics are shown in Table 1. There were no differences in any anthropometric characteristics at baseline. Protein intake increased in the 3 groups during the 9-weeks RT ($p < 0.01$), with no significant interaction (Table 2).

Plasma AA concentrations

Changes in plasma AA concentrations after ingestion of protein-enriched beverages are shown in Figure 1. There was a significant time and time $\times$ supplement interaction ($p < 0.01$) for total (TAA), essential (EAA), branched-chain AA (BCAA) and Leucine. FP(100) and FP(50) ingestion resulted in a more pronounced plasma Leucine concentration than after FP(20) ingestion ($p < 0.05$). Both AUC0-120 for plasma BCAA and Leucine were higher after FP(100) ingestion than FP(20) ($p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively). The AUC0-120 for plasma BCAA tended to differ between FP(50) and FP(20) ingestions ($p = 0.07$) and was significant higher for leucine with FP(50) compared to FP(20) ($p < 0.05$) (Figure 1D).

Body composition

Lean Body Mass

Whole lean body mass (LBM) values are shown in Figure 2A. LBM increased significantly with time in FP(100) (from $58.9 \pm 6.8\text{kg}$ to $60.4 \pm 7\text{Kg}$), FP(50) (from $60.2 \pm 5.5\text{kg}$ to $61.9 \pm 6\text{Kg}$), and FP(20) (from $62 \pm 5.4\text{kg}$ to $63.4 \pm 5\text{Kg}$), groups ($p < 0.01$). No time $\times$ supplement interaction was observed.

Significant increases with time were shown for arms lean mass (from 8 to $8.6\text{kg} \pm 1$, from 8.3 to $8.7\text{kg} \pm 0.7$, from 8.8 to $9.3\text{kg} \pm 0.9$, for FP(100), FP(50) and FP(20), respectively) ($p < 0.01$). Legs LM also significantly increased with time in FP(100) (from 23.6 to $23.9\text{kg} \pm 3$), FP(50) (from 23.6 to $23.9\text{kg} \pm 3$) and FP(20) groups (from 24.5 to $25.1\text{kg} \pm 2$) ($p < 0.01$), with no detectable difference between groups.

Fat Mass (%)

Fat mass values are displayed in Figure 2B. After 9 weeks of training, fat mass did not change for FP(100) ($-0.4 \pm 1\%$), FP(50) ($-1.13 \pm 1.7\%$) and FP(20) groups ($+0.4 \pm 1.2\%$), (time effect $p = 0.08$).

Muscle performance

Dynamic muscle strength

There was a significant time effect ($p < 0.01$) for bench-press performance, which increased similarly in all groups, from 85 to $93.5\text{kg} \pm 19.5$ in FP(100), from 83 to $87.5\text{kg} \pm 12$ in FP(50), and from 97 to $104.5\text{kg} \pm 21$ in FP(20) groups. For back squat, there was a marked time effect ($p < 0.01$), such as performance increased in all experimental groups from 96.25 to $111\text{kg} \pm 26$, 91.3 to $103\text{kg} \pm 17$, and 97 to $111\text{kg} \pm 17$ in FP(100), FP(50) and FP(20) groups, respectively. No time $\times$ supplement interaction effects were observed for dynamic muscle performance (Figure 3).

Isometric muscle strength

Maximal isometric torque significantly increased after the RT program ($p < 0.05$), for upper body (elbow extensors and flexors) and for knee extensors, but it only tended to be

significant for knee flexors ($p = 0.08$) (Figure 4). However this increase in isometric strength did not differ between groups (no time x supplement interaction effect).

Resistance to fatigue

Neither RT nor protein supplement did affect the resistance to fatigue (data not shown, $p=0.7$).

Discussion

To our knowledge, this is the first study to examine whether the ratio between “fast” and “slow” dietary proteins consumed immediately at the end of each resistance exercise could affect the muscle responses to a RT program. Given the well-known effects of whey protein alone (Naclerio et al. 2016), we tested the hypothesis that a combination of milk soluble protein and casein would improve the muscle responses to RT, and we examined the specific effects of two fast-to-slow ratios (i.e. FP(50) and FP(20) supplements). Our data show that post-exercise drinks varying by the fast-to-slow protein ratio did not affect the responses of fat mass, fat-free mass and muscle strength to 9 weeks of RT.

In the present study, our aim was not to verify the effects of protein supplementation on muscle mass and performance, but rather to examine whether the fast-to-slow dietary protein ratio impacts the muscle responses to RT. Protein supplements at the end of resistance exercises have additive effects beyond the muscle responses to exercises alone (Hartman et al. 2007, Willoughby et al. 2007). Previous studies have shown that supplements containing whey protein alone or combined with casein and other ingredients improve the lean body mass, upper and lower body strength gains observed after 6-12 weeks of RT, compared with the ingestion of carbohydrates or other protein sources (Naclerio et al. 2016).

Increasing aminoacid availability after exercise is effective in stimulating MPS (Pennings et al. 2011), as well as in lowering the rise in MPB observed at the end of resistance exercise (Biolo et al. 1997). Here we showed that the consumption of 20g of milk soluble proteins (FP(100)) and the consumption of a mixture of 10g of milk soluble proteins and 10g of slow proteins (FP(50)) induced similar rises in circulating TAA, EAA, BCAA and leucine. While EAA themselves play a major role in the rise in MPS, leucine in particular is a potent activator of MPS, in part through upregulation of the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1), and an inhibitor of MPB through downregulation of the expression of the key

components of the ubiquitin/proteasome pathway (Dodd and Tee 2012). Ingestion of FP(100) and FP(50) drinks led to higher leucine bioavailability, compared to FP(20) whose composition is close to that of the milk, containing 4g of fast protein and 16g of slow protein. Given the slight differences in leucine content of beverages, we estimated that 20 g of FP(100), FP(50) and FP(20) provided 2.2, 2 and 1.9 g of leucine, respectively. The slight lower plasma concentrations of leucine in the FP(20) group, compared with both FP(100) and FP(50) groups could be due to the lower amount of leucine provided by the dietary supplement, and/or the lower digestibility of casein which accounts for almost 80% of total proteins in FP(20) supplement.

The long-term muscle adaptations to specific protein supplementations during training interventions are mainly determined by both the amino acid composition of proteins and their digestibility. Previous studies clearly suggested that fast-digested and slow-digested proteins have synergistic effects on muscle anabolism (Dideriksen et al. 2013, Boirie et al. 1997). When measured for 0-6 h of recovery from resistance exercise, whey and casein proteins have similar effects on myofibrillar MPS (Tipton et al. 2004, Reitelseder et al. 2011). Moreover, whole body protein breakdown was also inhibited after casein ingestion in resting subjects (Boirie et al. 1997). Whether these effects observed at rest could be extended to recovery from resistance exercise needs to be examined.

However, despite expected synergistic effects of casein and soluble protein, the protein supplements tested in the present study led to similar changes in lean body mass, fat mass, and strength performances, especially with no difference between the supplement comprising milk soluble protein alone, and supplements comprising a mix of fast and slow proteins. The higher circulating leucine and BCAA concentrations following ingestion of the FP(100) supplement, compared with the FP(20), did not have a measurable and positive impact on the long term adaptations to RT. Because the consumption of whey protein at the end of resistance exercise stimulates MPS to a greater extent than casein, the present results highlight the lack of consistency between acute studies and longitudinal training studies. Several factors may explain this apparent discrepancy. Healthy volunteers enrolled in the present study were recreationally active, and regularly involved in resistance exercises. However, it cannot be excluded that experimental groups may include responders and non-responders to RT and/or protein supplements. The individual's inherited genetic predisposition, epigenetic changes and transcriptional plasticity may influence the variability in response to RT and/or nutrition (Mitchell et al. 2014).

Moreover, it has been recently suggested that spread and changes in protein intakes may be important factors predicting benefits from increased dietary protein during RT (Bosse and Dixon 2012). The protein spread theory postulated that there must be sufficient difference in daily protein intake, expressed as g/kg/day, between groups to detect changes in muscle mass and performance. No significant differences in total protein intake were observed between experimental groups during the period of RT and protein supplementation. However, since the control of nutrient intake was achieved through a food diary 2 days-a-week during the 9 weeks of RT, it cannot be excluded that further changes in protein intake may be missed. Moreover, the protein change theory postulated that there must be a sufficient change from baseline protein intake to observe lean mass gain and strength gain in response to protein supplementation (Bosse and Dixon, 2012). As reported in Table 2, the total daily protein intake during the 9 weeks of RT was significantly higher than habitual protein intake before training. Therefore, the average change in habitual protein intake was high, and was likely effective to improve the responses of lean mass and muscle performances to RT. However, the lack of detectable changes in the muscle responses to RT depending on the type of protein supplement is consistent with the protein spread theory, and in accordance with a previous study comparing whey and soy proteins (Candow et al. 2006). The higher plasmatic availability of BCAA and leucine after FP(100) or FP(50) ingestions did not seem to significantly affect the responses to RT. Interestingly, the present study failed to demonstrate that higher AA availability during the anabolic window that follows the end of exercise, enhances the magnitude of muscle responses to RT.

From a practical standpoint, the present results suggest that although the nutritional supplement comprising a mix of proteins similar to milk (i.e. FP(20)) resulted in lower aminoacidemia when compared with both FP(50) and FP(100), additional dietary proteins taken at the end of each exercise bout, independent of source, contribute similarly to optimize the long-term muscle adaptations to RT. What really matters to maximize the responses to RT is to provide a sufficient amount of high-quality proteins, at the end of exercise, and the ratio of fast-to-slow digested proteins makes little difference.

In conclusion, recovery drinks enriched with milk soluble proteins, provide a higher bioavailability in BCAA and leucine than a recovery drink comprising mostly slow proteins. However, this does not result in higher responses of lean tissue mass and strength to resistance training, at least under our experimental conditions.

Table 1. Descriptive characteristics of participants in the three experimental groups : FP(100), FP(50), FP(20)

	FP(100) <i>n=10</i>	FP(50) <i>n=11</i>	FP(20) <i>n=10</i>	<i>p</i> value
Age (year)	27 ± 6	23 ± 3	26 ± 5	<i>N.S</i>
Height (m)	1.78 ± 0.09	1.81 ± 0.06	1.81 ± 0.05	<i>N.S</i>
Body mass (Kg)	74.3 ± 6.8	76.0 ± 6.8	77.5 ± 6.9	<i>N.S</i>
BMI (Kg/m²)	23.5 ± 2.4	23.1 ± 1.1	23.7 ± 1.6	<i>N.S</i>
Body fat (%)	17.72 ± 5.3	17.26 ± 5.88	16.96 ± 1.8	<i>N.S</i>

All values are expressed in mean ± SD. BMI, Body Mass Index *N.S*, Non Significant

Table 2. Dietary intakes

	Baseline			During the nine-week intervention			<i>p</i> value	
	FP(100)	FP(50)	FP(20)	FP(100)	FP(50)	FP(20)	Time	Time x Supplement
Protein (g/kg/d)	1.5 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.4	1.9 ± 0.4*	1.9 ± 0.3*	1.8 ± 0.3*	<i>p</i> <0.01	<i>N.S</i>
CHO (g/kg/d)	3.9 ± 1.2	4.3 ± 0.6	3.7 ± 0.9	3.7 ± 1.6	3.9 ± 1.0	3.3 ± 0.7	<i>N.S</i>	<i>N.S</i>
Lipid (g/kg/d)	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.3*	0.9 ± 0.3*	0.9 ± 0.3*	<i>p</i> <0.01	<i>N.S</i>

* greater change compared to Baseline (*p*<0.01) (mean ± SD)

N.S, Non Significant

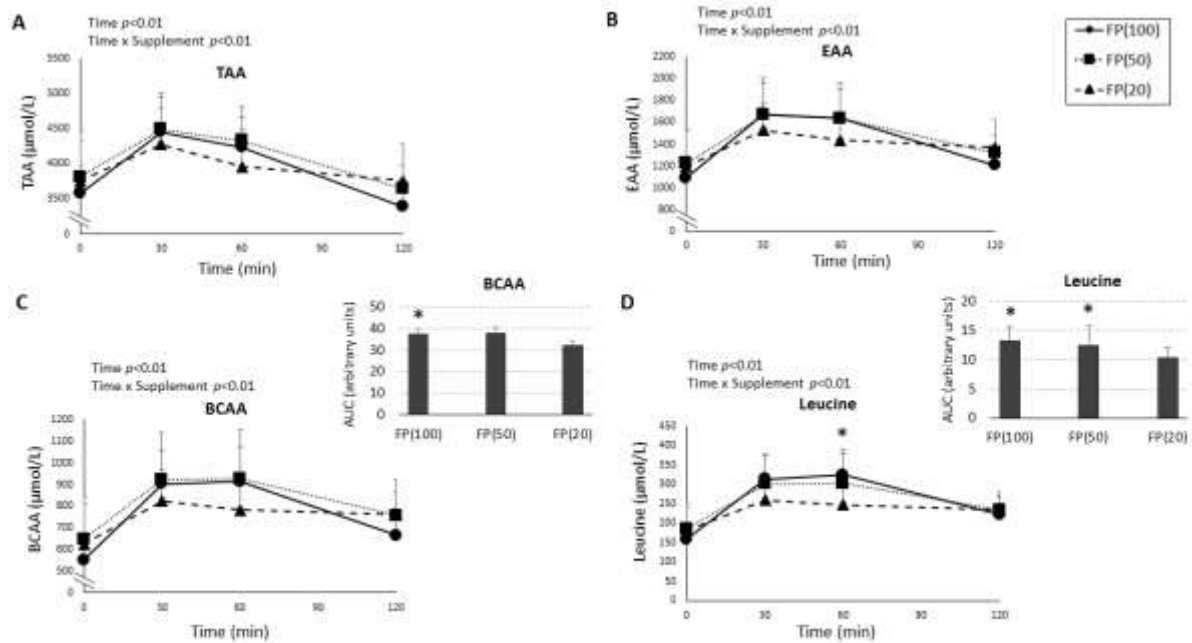


Figure 1. Plasma amino acid (AA) concentration ($\mu\text{mol/L}$) over 2 hours after resistance exercise and after the intake of FP(100), FP(50) or FP(20) drinks, with individual profiles for total AA (TAA, figure A), Essential AA (EAA, figure B), Branched-chain AA (BCAA, figure C) and Leucine (figure D). The insert shows the area under the curve (AUC) for 120 min following the ingestion of the protein beverage. *, different from FP(20), $p < 0.05$.

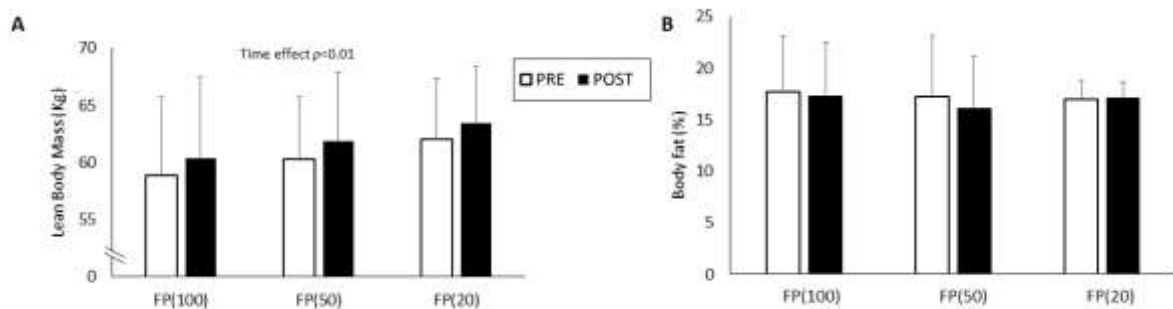


Figure 2. Total body composition for lean body mass (LBM, figure A) and body fat (figure B) before (PRE) and after 9 weeks of RT and protein supplementation (POST).

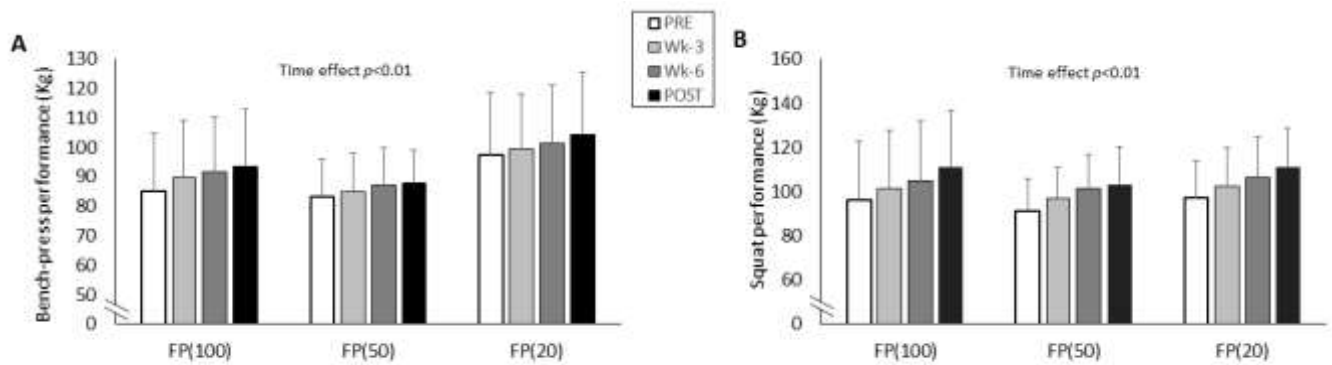


Figure 3. 1 RM bench-press (figure A) and 3 RM squat performance (figure B) before (PRE), after 3 weeks (Wk-3), 6 weeks (Wk-6) and 9 weeks (POST) of RT with supplementation. RM = maximal repetition.

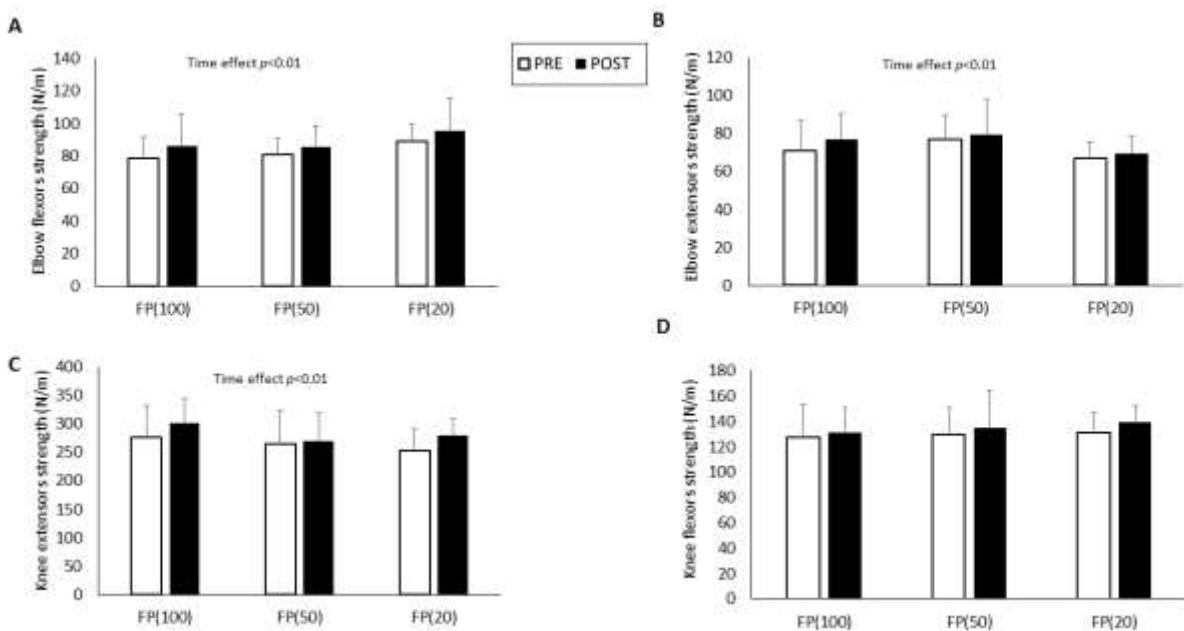


Figure 4. Evolution in maximal isometric torque for elbow flexors (figure A), elbow extensors (figure B), knee extensors (figure C) and knee flexors (figure D) before (PRE) and after 9 weeks of supplement and RT (POST).

Acknowledgments:

This study was supported by CIFRE contract n°2014/1001.

We acknowledge the contribution of all the authors in this research. The study was designed by Pr. Xavier Bigard and Dr. Christophe Hausswirth; the nutritional program and the interpretation of the nutritional results were undertaken by Dr. Eve Tiollier; the training program and RT bout supervision was made with the help of Dr. Alexandre Durguerian; the training supervision and strength testing was supervised by Marina Fabre with the help of Odeline Molle, Alexandre Durguerian, Dr. Julien Louis, Angelo Andreannoli and Enguerrand Aucher. Data were collected, analyzed and interpreted by Marina Fabre and Pr. Xavier Bigard. Finally, the manuscript preparation was undertaken by Marina Fabre and Pr. Xavier Bigard. All authors approved the final version of the paper. The authors declare that they have no conflicts of interest in relation to the present study.

References:

- Atherton, P.J., and Smith, K. (2012). Muscle protein synthesis in response to nutrition and exercise. *J Physiol.* **590(5)**:1049-57.
- Biolo, G., Tipton, K.D., Klein, S., Wolfe, R.R. (1997). An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. *Am J Physiol.* **273(1)**:122-9.
- Boirie, Y., Dangin, M., Gachon, P., Vasson, M.P., Maubois, J.L. and Beaufrere, B. (1997). Slow and Fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**:14930 –14935.
- Bosse, J.D., Dixon, B.M. (2012). Dietary protein in weight management: a review proposing protein spread and change theories. *Nutr Metab (Lond).* **12;9(1)**:81.
- Candow, D.G., Burke, N.C., Smith-Palmer, T., Burke, D.G. (2006). Effect of whey and soy protein supplementation combined with resistance training in young adults. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* **16(3)**:233-44.
- Cermak, N.M., Res, P.T., CPGM de Groot, L., Saris, W.HM., Van Loon, L.JC. (2012). Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* **96**:1454–64.
- Cribb, P.J., Williams, A.D., Carey, M.F. and Hayes, A. (2006). The effect of whey isolate and resistance training on strength, body composition, and plasma glutamine. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* **16**: 494-509.
- Dangin, M., Boirie, Y., Garcia-Rodenas, C., Gachon, P., Fauquant, J., Callier, P., Ballèvre, O., Beaufrère, B. (2001). The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **280(2)**: E340-8.
- Dangin, M., Boirie, Y., Guillet, C., Beaufrère, B. (2002). Influence of the protein digestion rate on protein turnover in young and elderly subjects. *J Nutr.* **132(10)**:3228S-33S.
- Dodd, K.M. and Tee, A.R. (2012). Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **302(11)**:E1329-42.

- Dideriksen, K., Reitelseder, S., Holm, L. (2013). Influence of amino acids, dietary protein, and physical activity on muscle mass development in humans. *Nutrients*. **5(3)**:852-76.
- Esmarck, B., Andersen, J.L., Olsen, S., Richter, E.A., Mizuno, M., Kjaer, M. (2001). Timing of postexercise protein intake is important for muscle hypertrophy with resistance training in elderly humans. *J Physiol* **535**:301–11.
- Hartman, J.W., Tang, J.E., Wilkinson, S.B., Tarnopolsky, M.A., Lawrence, R.L., Fullerton, A.V. and Phillips, S.M. (2007). Consumption of fat-free fluid milk after resistance exercise promotes greater lean mass accretion than does consumption of soy or carbohydrate in young, novice, male weightlifters. *Am J Clin Nutr*. **86**:373-81.
- Kimball, S.R. and Jefferson, L.S. (2006). Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. *J Nutrition*. **136(1 Suppl)**:227S-31S.
- Kraemer, WJ., Adams, K., Cafarelli, E., Stone, MH., Dudley, GA., Dooly, C., Feigenbaum, MS., Fleck, SJ., Franklin, B., Fry, AC., Hoffman, JR., Newton, RU., Potteinger, J., Ratamess, NA., Triplett-Mcbride, T. (2009). American College of sports medicine position stand: Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sport Exercise*. **34(2)**:364-80.
- Levenhagen, D.K., Gresham, J.D., Carlson, M.G., Maron, D.J., Borel, M.J., Flakoll, P.J. (2001). Postexercise nutrient intake timing in humans is critical to recovery of leg glucose and protein homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**: E982–93.
- Mitchell, C.J., McGregor, R.A., D'Souza, R.F., Thorstensen, E.B., Markworth, J.F., Fanning, A.C., Poppitt, S.D., Cameron-Smith, D. (2015). Consumption of Milk Protein or Whey Protein Results in a Similar Increase in Muscle Protein Synthesis in Middle Aged Men. *Nutrients*. **7(10)**:8685-99.
- Naclerio, F. and Larumbe-Zabala, E. (2016). Effects of Whey Protein Alone or as Part of a Multi-ingredient Formulation on Strength, Fat-Free Mass, or Lean Body Mass in Resistance-Trained Individuals: A Meta-analysis. *Sports Med*. **46(1)**:125-37.
- Pennings, B., Koopman, R., Beelen, M., Senden, J.M.G., Saris, H.M.W. and Van Loon, L.J.C. (2011). Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein-derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men. *Am. J. Clin. Nutr*. **93**:322–31.
- Reitelseder, S., Agergaard, J., Doessing, S., Helmark, I.C., Lund, P., Kristensen, N.B., Frystyk, J., Flyvbjerg, A., Schjerling, P., Van Hall, G., Kjaer, M. and Holm, L. (2011). Whey and casein labeled with L-[1-13C] leucine and muscle protein synthesis: effect of resistance exercise and protein ingestion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. **300**: E231-42.
- Tang, J.E., Moore, D.R., Kujbida, G.W., Tarnopolsky, M.A. and Phillips, S.M. (2009). Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol*. **107**: 987-92.
- Tipton, K.D., Elliott, T.A., Cree, M.G., Wolf, S.E., Sanford, A.P. and Wolfe, R.R. (2004). Ingestion of Casein and Whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise. *Med. Sci. Sports Exerc*. **36(12)**: 2073-81.
- Wilkinson, S.B., Tarnopolsky, M.A., Macdonald, M.J., Macdonald, J.R., Armstrong, D. and Phillips, S.M. (2007). Consumption of fluid skim milk promotes greater muscle protein accretion after resistance exercise than does consumption of an isonitrogenous and isoenergetic soy-protein beverage. *Am J Clin Nutr*. **85**: 1031-40.
- Willoughby, D.S., Stout, J.R., Wilborn, C.D. (2007). Effects of resistance training and protein plus amino acid supplementation on muscle anabolism, mass, and strength. *Amino Acids*. **32(4)**:467-77.

Conclusions et applications pratiques de l'étude

Il s'agit de la première étude à avoir examiné si le rapport entre les protéines du lait « rapides » et « lentes » contenues dans la boisson de récupération consommée immédiatement à la fin de chaque séance de musculation pouvait affecter les réponses musculaires (masse musculaire et force) à un entraînement en musculation.

Dans cette étude, nous avons montré que l'ingestion des boissons FP(100) et FP(50) conduit à une plus forte bio-disponibilité plasmatique en leucine, comparées à la boisson FP(20), dont la composition est proche de celle du lait. Cependant, les boissons de récupération FP(100), FP(50) et FP(20), n'affectent pas différemment les évolutions de la masse grasse, la masse maigre et de la force en réponse à un entraînement en musculation de 9 semaines, malgré leurs compositions différentes en lactosérum et caséine. Dans cette étude, il semblerait donc que la plus forte disponibilité plasmatique en leucine pendant la fenêtre anabolique à la fin de l'exercice, induite par l'ingestion de lactosérum, ne favorise pas les réponses musculaires à un entraînement en musculation.

D'un point de vue pratique, il apparaît donc que les réponses de la masse musculaires et des performances en force, à un entraînement en musculation, sont influencées avant tout par un apport en protéines de haute qualité biologique, plus que par un rapport spécifique entre les protéines lentes et rapides.

MANUSCRIT 2

Contexte et objectif de l'étude

Le gain de masse musculaire résulte d'un déséquilibre en faveur de la protéosynthèse par rapport à la protéolyse. Après l'exercice, la protéosynthèse est augmentée. A ce moment-là, l'efficacité de la supplémentation en protéines de lactosérum sur les réponses musculaires (masse musculaire et force) à un entraînement en musculation est aujourd'hui démontrée (Naclerio and Larumbe-Zabala 2016). Par ailleurs, pendant la nuit, la balance protéique est négative. Res et al. (2012) ont montré qu'un apport de protéines lentes (caséine) avant le coucher, maximise la protéosynthèse, résultant en une balance synthèses/dégradations positive pendant la nuit. En réponse à un entraînement en musculation, Snijders et al. (2015) ont démontré qu'une supplémentation en caséine avant le coucher majore les réponses musculaires à cet entraînement, comparée à une supplémentation placebo. Cependant, cette comparaison (caséine vs placebo) ne permet pas de savoir si cet effet est lié au maintien d'une bonne disponibilité musculaire en acides aminés pendant la phase de récupération des séances, ou pendant la nuit.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude, était d'évaluer l'effet et le moment optimal de l'apport en caséines dans le cadre d'un entraînement en musculation.

Pour cela, 45 jeunes hommes (24 ± 4 ans) ont pris part à ce protocole d'entraînement en musculation de 6 semaines, et ont été répartis de manière randomisée selon 4 groupes. Un groupe a consommé une boisson placebo non-énergétique (PLACEBO, $n=10$), un autre groupe a consommé 20g de protéines de lactosérum (protéine rapide) (WHEY, $n=11$), immédiatement après chaque séance d'entraînement. En plus de l'apport en protéines rapides après chaque séance, les deux autres groupes ont ingéré 30g de caséines, 3h après la fin de chaque exercice (WHEY+CAS-3h, $n=12$) ou 30 min avant le coucher (WHEY+CAS-NIGHT, $n=12$).

Nous émettions l'hypothèse que la prise de caséine 3h après la fin de l'exercice permettrait le maintien d'une parfaite disponibilité tissulaire en acides aminés après l'exercice, favorisant ainsi les gains de masse musculaire et de force en réponse à un entraînement en musculation réalisé le matin, comparé à l'apport de caséine avant le coucher.

Article - Effects and optimal timing of casein intake on muscle mass and strength during resistance training

Marina Fabre¹, Eve Tiollier¹, Odeline Molle¹, Xavier Bigard^{1, 2}

¹Laboratory « Sport, Expertise, Performance » EA 7370
French National Institute of Sport, Expertise and Performance (INSEP)
Paris, France.

² French Anti-doping Agency (AFLD)
Paris, France.

Running title: Casein intake and resistance training

Journal: *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*

Address for correspondence:

Marina Fabre
French National Institute of Sport (INSEP)
11 Avenue du Tremblay
75012 Paris
France
Email: marina.fabre@insep.fr
Tel: +33 141744138

Abstract

Effects and optimal timing of casein intake on muscle mass and strength during resistance training

High levels of muscle protein synthesis are required to improve the gain of muscle mass in response to resistance training (RT). Previous data suggested that casein intake before sleep would be able to maximize the muscle responses to RT (Snijders et al. 2015). However, whether this method is still effective compared to the same daily protein intake, but provided at different timing remains to be examined.

Therefore, the aim of this study was to identify i) the importance of various forms of milk proteins on the muscle responses to RT, and ii) the optimal timing for taking casein after training sessions.

Forty-five young men (24 ± 4 years old) were randomly assigned to a 6-weeks RT program (4 sessions/week undertaken in the mid-day between 1100 and 1300) with various nutrient intakes. One group consumed a non-energetic placebo (PLACEBO, $n=10$). Another group consumed 20g of milk soluble proteins (whey) immediately after each RT session (WHEY, $n=11$). In addition to the fast protein intake after each exercise, the two other groups consumed 30g of casein, but at different timing: 3 hours after the RT bout (WHEY+CAS-3h, $n=12$) or 30 min before sleep (WHEY+CAS-NIGHT, $n=12$). Muscle hypertrophy was assessed before and after RT using both dual X-ray absorptiometry (DXA) and magnetic resonance imaging (MRI) for arm muscle cross sectional area (CSA) measurement. Muscle strength was evaluated regularly by 1 repetition-maximum strength testing and by maximum isometric torque (Con-Trex) for upper and lower body.

Whole-body lean mass significantly increased after RT in all groups ($p < 0.01$). Moreover, arm CSA significantly increased in WHEY+CAS-3h, WHEY+CAS-NIGHT and WHEY groups (e.g. $+545 \pm 398 \text{ mm}^2$; $+601 \pm 345 \text{ mm}^2$; $+568 \pm 240 \text{ mm}^2$, respectively, $p < 0.01$), but not in PLACEBO group ($-13 \pm 242 \text{ mm}^2$, $p > 0.05$). No difference was shown between the three protein-supplemented groups at the end of RT. Muscle strength assessed by means of isometric and isotonic exercises increased after RT for all groups ($p < 0.05$). However, the magnitude of improvement in dynamic strength was superior in WHEY+CAS-3h compared to WHEY+CAS-NIGHT (*likely, largely higher*), WHEY (*very likely, very largely higher*) and PLACEBO groups (*most likely, very largely higher*) (magnitude-based inferences).

Fast protein ingestion after strength exercises is an effective and sufficient dietary strategy to improve the responses of muscle mass to RT. However, addition of casein 3h after each training session is an additional effective strategy to improve muscle dynamic strength gains during RT in young men.

Key words: Milk soluble protein; Casein; Lean Body Mass; Muscle strength; Resistance Training.

Introduction

Most evidence suggests that exercise and protein ingestion interact synergistically to maximize the muscle responses to physical training. Protein ingestion at the end of exercise leads to an increase in muscle protein synthesis (MPS), and net muscle protein accretion during the acute stages of post-exercise recovery (Cermak et al. 2012). Therefore, post-exercise protein ingestion is widely considered as an effective a strategy to augment muscle protein synthesis rates, and to facilitate the skeletal muscle adaptive response to exercise training, especially resistance training (RT) (Jäger et al. 2017). Several studies were aimed to examine the most effective protein composition, dosing strategy, and protein timing strategies able to maximize the muscle adaptive responses to RT. A recent meta-analysis showed that whey protein improved the responses of lean body mass, as well as muscle strength after resistance training (RT), compared with subjects ingesting isoenergetic supplements containing carbohydrates or other sources of proteins (Naclerio et al. 2016). Moreover, ingestion of 20 g of high-quality protein has been shown effective for maximizing MPS rates during recovery from resistance exercise (Moore et al. 2009). Besides the type, amount, and leucine content of ingested proteins, the timing of protein ingestion throughout the day is decisive for ensuring lean mass accretion (Areta et al. 2013).

Given that protein ingestion is known to stimulate MPS and that overnight sleep is the longest post-absorptive period during the day, it has been suggested that the overnight sleeping period could be a new window of opportunity to enhance MPS and muscle mass (Trommelen et al. 2016). The hypothesis was that additional pre-sleep protein ingestion would represent a practical strategy to add another meal and increase the overnight MPS rates. In a proof-of-concept study, it has been shown that dietary protein ingested immediately before sleep was properly digested and absorbed, increased overnight plasma amino acid availability, and led to enhance muscle protein accretion during overnight sleep (Res et al. 2012).

Since provision of dietary protein before sleep represents an effective strategy to improve MPS and muscle protein balance, it has been hypothesized that combining pre-sleep protein ingestion with resistance exercise may further enhance muscle protein accretion (Trommelen et al. 2016). Consistent with this hypothesis, it has been reported that when provided before sleep, dietary protein led to increase MPS during postexercise overnight sleep (Res et al. 2012). However, acute responses measured after a nutritional intervention at the end of a single bout of resistance exercise are not be directly reflective of adaptations expected over the course of several weeks of RT. Interestingly, it has been shown that the expected gains in

muscle mass and strength after 3 mo of RT performed in the evening, are enhanced with daily supplementation with 27.5 g of dietary protein provided just before sleep (Snijders et al. 2015).

However, these studies were not nitrogen-balanced and subjects of protein group were compared with non-protein non-energetic placebo group. Therefore, it can only be speculated that the greater gains in muscle mass and strength in response to RT were related to the pre-sleep timing of protein ingestion. Moreover, the daily casein ingestion of 54 g in the morning or in the evening, 90 min prior to sleep, failed to improve lean body mass or muscle performance in regularly trained men and women (Antonio et al. 2017). Given these findings, more research is needed to determine if timing per se, or the simple addition of protein to total daily intake affect the responses to RT. On the other hand, it has been argued that in normal everyday practice, recreational sports activities are often performed in the late afternoon or evening after a full day of habitual physical activity and food intake (Trommelen et al. 2016). If that assertion is true for recreationally active people, it remains more than questionable and clearly not applicable for regularly trained athletes. Although casein ingestion prior to sleep improves amino acid availability and MPS during a postexercise overnight period, these findings did not clarify whether the positive effects of casein were related to an extended period of amino acid availability after resistance exercise, and/or to higher amino acid availability throughout the night. Whether pre-sleep ingestion of a “slow protein” such as casein is superior to casein ingestion at a different time point during the day remains to be examined.

Therefore, the present study investigated whether the effects of casein ingestion before sleep on muscle and strength gains were related to the pre-sleep timing or the higher amino acid availability few hours after the end of resistance exercise. Young men volunteered to participate in a 6-wk RT intervention program. Resistance-type training sessions were performed 4 times/wk, in the mid-day between 1100 and 1300. Throughout the training program, subjects ingested 20 g whey protein just at the end of each exercise, with or without an additional 30 g casein protein, either 3 h after exercise or immediately prior to sleep. To the best of our knowledge, this study is the first to assess whether 1) the effects of pre-sleep casein ingestion on the muscle responses to RT are confirmed when exercise sessions are performed in the mid-day, 2) providing casein 3 h after resistance exercises performed in the mid-day leads to similar gains in muscle mass and strength.

Methods

Subjects

Forty-five healthy young (19-35 years) recreational resistance trained men participated in the study. The subjects were randomly assigned into 4 different groups. One took a non-caloric placebo drink after each training session (PLACEBO, n=10), one supplemented with 20 g of milk soluble proteins (WHEY, n=11), one supplemented with an additional 30g of casein taken 3h after the end of each training session (WHEY+CAS-3h, n=12), and one group supplemented with 30g casein taken 30min before sleep (WHEY+CAS-NIGHT, n=12). They were all non-smokers and had no musculoskeletal disorders likely to affect their ability to respond to RT. Subjects who were allergic to milk protein, lactose intolerant or who had taken any protein supplementation during the last year were not included in the study. The protocol complied with the guidelines set by the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 1983, and was approved by the local Ethics Committee (Sud-Est VI Clermont-Ferrand, France).

Experimental design

This was a placebo-controlled, randomized study. The subjects were first familiarized with the RT during a two-week preparatory period. Subjects exercised two times per week in order to standardize their training status, without protein drinks. After this preparatory period, subjects started the actual RT program, supplemented with the nutritional beverages assigned. They all completed 6 weeks of the supervised RT, completed between 1100 and 1300. Each subject received a recovery drink to be consumed within 15 minutes after the end of each RT session (placebo or whey). The ingestion of the recovery beverages was supervised, and participants were asked to eat 1h after the end of the training. Then, the two groups supplemented with casein were asked to ingest the protein supplement either 3h after the end of the training session (WHEY+CAS-3h), or 30min before sleep (WHEY+CAS-NIGHT). Body composition and strength changes in response to RT and recovery drinks were tested at inclusion (PRE), then after three weeks of training (MID) and at the end of RT (POST). All tests were conducted 48 hours after the last training session.

Resistance Training

Whole-body RT started after the preparatory period (PRE). This familiarization period lasted 2 weeks with 2 training sessions per week. The program consisted in the same exercises that were undertaken for the intensive 6 weeks program, with lower and upper body resistance exercises, which are described below. The only difference with sessions included within the training program was the workload of each exercise which was determined at 50-60% of 1RM. Thereafter, subjects started the 4 times a week RT. The participants trained on Monday, Tuesday, Thursday and Friday between 1100 and 1300 for a total of 6 weeks. During the training program, Monday and Thursday sessions mixed lower and upper body training consisting of back squats, leg extension and leg curl for the lower body, and bench press, lying triceps extension, inclined barbell press, dumbbell press, and dumbbell curls for the upper body. On Tuesdays and Fridays, participants completed an upper body session focused on biceps, back and shoulders exercises such as bent over row, lat pull down, cable row, biceps barbell curls, hammer dumbbell curls, and dumbbell press. It was divided into 2 blocks, each consisting of 3 different weeks with mainly sets of 10-12 repetitions with 70-75% of 1 RM the first week, 8-10 repetitions with 75-80% of 1 RM, the second week, and 6-8 repetitions with higher loads such as 80-85% of 1 RM the third week. The 1-RM values were determined every 3 weeks, and then the relative intensity of resistance sessions was adjusted accordingly. This RT program was elaborated to develop both hypertrophy (10-12 repetitions) and maximal strength (6-8 repetitions), which is in line with the American College of Sports Medicine position stand recommendations of progression models in RT (Kraemer et al. 2002).

Protein supplementation

The protein supplements were presented in the form of chocolate flavored mixed powder, packaged in individual unidose sachets, and identified with the randomization number. These nutritional supplements were to be consumed in the form of drinks reconstituted in 250 ml of water (whey supplement) and 300ml of water (casein supplement). The supplements were manufactured by the company JLB Development - 18, chemin des Tard Venus - 69530 Brignais (France). The whey protein supplement was composed of 20.5 g of milk soluble proteins, 20.5 g carbohydrate (50/50; glucose/maltodextrin), and 0.5 g fat. The casein supplement was composed of 31.5 g of calcium caseinate, 15.5 g carbohydrate (fructose), and 0.6 g fat. The placebo drink was a commercially non-caloric drink with lemon flavour.

The participants were asked to drink the protein beverage within the 15 minutes after the end of each training session. Then, the casein supplementations were ingested, either 3h after each

resistance training session, or 30min before sleep. The supplements were asked to be consumed only on training days.

Diet control

Before the preparatory, participants were asked to complete a one-week food diary. Their nutritional intakes of proteins, carbohydrates and lipids were estimated at each meal and snack during the day. According to their habitual nutritional intake, they had a nutritional program, including a standardized breakfast, lunch, snack (4-5pm) and diner. During the 6 weeks of RT, each participant had to complete a food diary 2 days-a-week on training days. Food diary was debriefed with a nutritionist. Energy, protein, carbohydrate and lipid intakes before and during the follow-up period were calculated for each meal using dietary-analysis based on information from the French database of food composition sources (CIQUAL, 2013).

Muscle cross-sectional area measurements

Magnetic resonance imaging (MRI) was used to assess the cross-sectional area (CSA) of the left upper arm at the mid-point between the acromion process and the lateral epicondyle using a 3T Tri MR scanner with a 12-channel head coil (MRI, G-scan Esaote, Italy). All baseline, MRI scans were completed within a 48-h period at the end of the preparatory period (PRE). Post-training MRI scans were conducted in a no sooner than 48 h after the completion of RT in order to reduce potential MRI distortion due to inflammation and the influx of intracellular water that may result from the last training sessions, but no more than 72 h. CSA of the whole arm musculature was analyzed using a custom-written image analyzing software on a desktop computer (Met lab; Mathworks, Inc., Natick, MA). Each muscle of the whole arm region (biceps brachii, triceps brachii) was identified from the images independent of skin, bone and fat. Each muscle or muscle group was manually traced using a computer mouse, allowing muscle group CSA to be automatically computed. For data analysis, four 10-mm CSA slice images of the left upper arm were analyzed, and three of these images were averaged for CSA calculations. The CSA was calculated by counting the number of pixels falling on the area designated as muscle, and the contribution of fat and other non-contractile connective tissues was excluded from calculations. The number of pixels counted was multiplied by the area value of a pixel to yield the muscle CSA (Jubrias et al. 1997). Interclass correlation (ICC) and validity

statistics using these techniques has been shown to be strong (ICC = 0.99 and $r = 0.97$, respectively).

Whole-body composition

Whole-body weight, fat mass and lean mass were measured using dual energy X-ray absorptiometry (DXA, dual-energy X-ray absorptiometry, General Electrics, Madison, USA). Body composition was measured at the end of the preparatory period (PRE) and at the end of RT (POST). These measurements were always performed in standardized conditions, in the morning, the subjects in a fasted state, 48 h after the completion of resistance exercise.

Muscle performances

48 h after the last RT session, dynamic muscle strength was assessed using a 3 RM technique in back squat and 1 RM in bench-press. The first set of 10 repetitions with a light initial load was used as a warm up. Thereafter, the load was increased until maximal effort was achieved. To validate the maximal load in back squat the leg had to be at 90° from the ground. For the bench press, the bar had to touch the chest and the bottom had to touch the bench. Participants had 3 attempts, with 3 to 5 minutes rest between each try. The performance of the last test (3 weeks before) had to be confirmed at the first try. According to the difficulty perceived during this first try, the participants chose to increase the load by 2.5 or 5kg for the 2 following tries.

Moreover, isometric muscle strength was measured. Maximal isometric strength was assessed for lower and upper body at a 90° position for knee extensors and elbow flexors on an isokinetic dynamometer (Con-Trex Multi-Joint System, Dübendorf, Switzerland). Maximal voluntary contraction (MVC) was assessed three times at one minute-interval rests. If the last try was much better (more than 20N/m) than the two first tries, another MVC was conducted so as to make sure that the highest performance was achieved.

These muscle performances testing were assessed before the familiarization period, before the beginning of RT (PRE), after 3 weeks of RT (MID) and after the end of RT (POST). The tests were always conducted in the same conditions (timing, snack before, material and encouragements). The participants were only allowed to drink water during the test, and no energy intake (drinks or snacks) was allowed during the performance test.

Statistical analysis

All data were analyzed using two-factor repeated-measures ANOVA to examine the global effects of training, supplement, and training x supplement interaction. If any main effects was observed, a Newman-Keuls post-hoc procedure was used to locate where differences occurred. Values are presented as means $\pm$ SD and statistically significant differences were accepted when $p < 0.05$.

In order to assess the practical meaning of the results, data were analyzed using the magnitude-based inference approach (Hopkins et al. 2009). This qualitative approach was used to analyze performance parameters because traditional statistical approaches often do not indicate the magnitude of an effect, which is more relevant than any statistically significant effect to infer practical recommendations for athletes. To reduce any possible bias arising from non-uniformity of error, all data were log transformed before analysis. The magnitude of the within-group changes was interpreted by using effect size (Cohen's d) values of 0.2, 0.6, 1.2, 2.0 and 4.0 of the between-athlete variation at PRE, MID or POST as thresholds for small, moderate, large, very large and extremely large differences, respectively. Quantitative chances of higher or lower values than the smallest worthwhile change (SWC, equal to a Cohen's d of 0.2) were evaluated qualitatively as follows: <1%, almost certainly not; 1%-5%, very unlikely; 5%-25%, unlikely; 25%-75%, possible; 75%-95%, likely; 95%-99%, very likely; and >99%, almost certain. In the case of having beneficial/better or detrimental/power changes were both >5% higher or lower values was 5%, the true difference was assessed as unclear (Hopkins et al. 2009).

Results

Subjects and dietary intakes

All subjects' characteristics are shown in Table 1. There were no differences in any anthropometric characteristics at baseline. The training x supplement interaction reflects the increased protein intake recorded in the 3 protein-supplemented groups (WHEY, WHEY+CAS-3h, WHEY+CAS-NIGHT) ($p < 0.01$), but not in the PLACEBO group (Table 2).

Body composition

Lean Body Mass (kg)

Whole lean body mass (LBM) increased significantly with training in all experimental groups ($p < 0.01$). There was no significant effect of supplement on LBM. No difference between groups was observed (no training $\times$ supplement interaction, $p = 0.6$) (Figure 1).

Fat Mass (%)

After 6 weeks of training, fat mass did not change neither in PLACEBO ($-0.3 \pm 1\%$), WHEY ($-0.5 \pm 1.5\%$), WHEY+CAS-3h ($+0.5 \pm 1\%$) nor in WHEY+CAS-NIGHT groups ($-0.01 \pm 1\%$), ($p > 0.05$).

Arm Cross Sectional Area (CSA, mm²)

At baseline, there was no significant difference in arm muscle CSA between the four groups. Arm muscle CSA increased in the three protein-supplemented groups (WHEY, WHEY+CAS-3h and WHEY+CAS-NIGHT, $p < 0.01$), but not in PLACEBO group ($p > 0.05$; Figure 2).

Muscle performance

Dynamic muscle strength

At baseline, no significant difference was observed for 1 RM muscle performance for the four groups.

Resistance training significantly increased bench-press performances (main effect $p < 0.01$), with no difference between groups (no training $\times$ supplement interaction, $p = 0.52$) (Figure 3B). The magnitude of the within-group increase in bench-press performances was estimate as *small* for all experimental groups.

Even if the differences in performance changes between groups were *unclear*, bench-press gains tended to be higher in WHEY+CAS-3h group compared to PLACEBO (92% chance to be higher compared to 7% of chance) and to WHEY groups (93% vs 6%). We observed the same tendency between WHEY+CAS-NIGHT group compared to PLACEBO (90% vs 8%), and compared to WHEY groups (92% vs 7%) (magnitude-based inference).

Squat performances were improved by RT (main training effect, $p < 0.01$). A training $\times$ supplement interaction reflected the influence of supplement on the responses to RT ($p = 0.02$).

Squat performances increased in all experimental groups, +12% (*moderate*), +12% (*moderate*), +19% (*large*), +16% (*moderate*), in PLACEBO, WHEY, WHEY+CAS-3h and WHEY+CAS-NIGHT, respectively. During the three last weeks of training, squat performances significantly increased for the three protein-supplemented groups ($+5.5 \pm 6\text{kg}$; $+10 \pm 5\text{kg}$; $+6 \pm 4\text{kg}$, for WHEY, WHEY+CAS-3h and WHEY+CAS-NIGHT, respectively; $p < 0.05$) but not for PLACEBO group ($+3.5 \pm 2\text{kg}$; $p > 0.05$).

Squat performance gains were *most likely extremely largely* higher in WHEY+CAS-3h than in PLACEBO, *very likely extremely largely* higher in WHEY+CAS-3h than in WHEY group, and *likely very largely* higher in WHEY+CAS-3h than in WHEY+CAS-NIGHT group (Figure 3A).

The sum of all 1 RM performances (squat + bench-press) increased to a larger extent, during the three last weeks of training, in the three protein-supplemented groups, compared to PLACEBO (main effect training $p < 0.01$ and training x supplement interaction $p < 0.05$). Moreover, the gain of total maximal strength was higher in WHEY+CAS-3h group, compared to PLACEBO group (*most likely, very largely higher*), to WHEY group (*very likely, very largely higher*) and to WHEY+CAS-NIGHT group (*likely, largely higher*) (Figure 4).

Isometric muscle strength

Maximal isometric torque significantly increased after the RT program ($p < 0.01$), for upper body (elbow flexors) and for lower body (knee extensors). Isometric strength gains in knee extensors were *moderate* in all protein-supplemented groups, and *small* in PLACEBO group. Isometric strength gains in elbow flexors were *small* in all protein-supplemented groups. No significant change was detected in elbow flexor isometric strength in PLACEBO group.

Discussion

Previous studies showed that protein ingestion immediately before sleep increased MPS rates, led to positive protein balance during overnight recovery from a single bout of resistance exercise, and enhanced the gains in muscle mass and strength during RT (Res et al. 2012, Snijders et al. 2015). These studies clearly suggested that nighttime protein provision might provide an additional anabolic stimulus improving the whole body protein balance during recovery.

However, although these studies are promising in order to optimize the muscle responses to RT, several issues remain unresolved.

Some questions to consider include whether the positive benefits of protein provision before sleep are related, at least partly, to the resistance exercise performed in the evening. To the best of our knowledge, the few studies available to date included a resistance exercise few hours varying from 2.5 (Res et al. 2012) to 3.9 h (Snijders et al. 2015) before pre-sleep protein ingestion. One of the objectives of the present study was to examine the effects of pre-sleep casein ingestion when resistance-type exercises are scheduled in the mid-day, a more realistic situation for athletes, especially top athletes who train several times a day. The present study shows that casein ingestion 3 h after the end of resistance exercise led to an increase in strength gains during dynamic exercises, in response to 6 weeks RT, in comparison with pre-sleep provision of casein. This study clearly suggests that the efficiency of pre-sleep casein ingestion results, at least partly, from its association with resistance-type exercise a few hours earlier.

Previous studies showed that ingestion of 40 g casein protein 30 min before sleep increased MPS during post-exercise overnight recovery (Res et al. 2012), and that a more moderate dose of 30 g casein protein, with or without additional free leucine, did not increase myofibrillar synthesis rates (Trommelen et al. 2017). Taken together, these findings suggest a pre-sleep protein dose-response relationship for overnight MPS, which differs from that previously shown for post-exercise MPS. However, acute responses to a nutritional intervention at the end of a single bout of resistance exercise are not directly reflective of long-term adaptations expected after several weeks of RT. There is now a large body of evidence that supports the importance of increased MPS at the end of resistance exercise to explain the RT-induced muscle hypertrophy. Moreover, the large inter-individual variance in MPS measured at the end of a single bout of resistance exercise, accounts, at least partly, for the large variability observed in muscle growth during RT. However, it has been shown that the acute measures of MPS following a single bout of resistance exercise were not correlated with muscle hypertrophy following 16 weeks of training (Mitchell et al. 2014). It is therefore difficult to predict the hypertrophic response to a specific training program by only measuring MPS for a few hours after the first exercise. Hence the importance from a practical standpoint, to study the muscle responses to prolonged RT and not only to a single bout of exercise.

In the present study, a main effect of RT was observed on the whole-body lean mass estimated using DXA scans ($p < 0.01$), without training x supplement interaction, and with similar gains in all experimental groups. This finding is in line with a previous study that evidenced similar changes in whole-body lean mass in response to RT, between subjects

consuming either casein supplementation or placebo prior to sleep (Snijders et al. 2015). In addition, we used MRI to measure changes in arm muscle cross-sectional area. In many contexts, the accurate estimation of skeletal muscle CSA using MRI is viewed as the reference method for quantifying whole-body and regional muscle mass with a validity coefficient of $r=0.99$ and a mean error of 1.2% against cadaver arm and leg skeletal muscle (Mitsiopoulos et al., 1998). Although this technique is costly and time consuming, MRI is widely regarded as the ‘gold standard’ for the assessment of changes in muscle size of specific muscle groups. Using this imaging technique, we show that protein supplementation, with or without slow-proteins, either, 3 hours after exercise or prior to sleep, increased muscle upper arm gains, compared to placebo ingestion. However, we failed to demonstrate any significant differences in muscle gains between all experimental groups with protein supplementation. Increasing protein intake through fast-protein ingestion early after exercise, with or without delayed slow-protein ingestion maximizes muscle gains to RT. This finding is consistent with previous results that suggested that protein ingestion before sleep was an effective dietary strategy to augment skeletal muscle mass during RT, but compared to ingestion of a non-caloric placebo (Snijders et al. 2015). In the present study, two experimental groups were strictly nitrogen-balanced (i.e. WHEY+CAS-3h and WHEY+CAS-NIGHT), and we failed to evidence any benefits of casein ingestion just prior to sleep on muscle gains, compared to casein ingestion 3 hours after the end of each resistance exercise. Moreover, delayed slow-protein ingestion after resistance exercise performed at mid-day (i.e. either after 3 h recovery or prior to sleep) did not show additional benefit on muscle gain compared to only ingestion of fast-proteins. Taken together, these findings suggest that considering muscle gains, the additional effects of pre-sleep protein ingestion are strongly dependent from resistance exercise performed in the evening.

The increase in maximum isometric force measured in elbow flexors observed in all protein-supplemented groups is consistent with the upper arm muscle gains. This finding supports the well-known correlation between muscle CSA and isometric muscle strength (Häkkinen et al. 1998). We did not measure thigh muscle changes with training and protein ingestion. However, since isometric strength measured in knee extensors showed a similar pattern of change than elbow flexor muscles, improved isometric strength in legs are likely related to adaptive changes in muscle mass. One interesting finding is that, as discussed above, delayed slow-protein ingestion after resistance exercise performed at mid-day (i.e. either after 3 h recovery or prior to sleep) did not show additional benefit on isometric muscle strength gains, compared to only ingestion of fast-proteins during early recovery from exercise.

In contrast to isometric strength, statistical differences occurred in muscle strength measured during dynamic exercises (i.e. squat and bench-press), between WHEY-CAS-3h and the two other protein-supplemented groups, which were estimated as *likely large* compared to WHEY-CAS-NIGHT, and *very likely very large* compared to WHEY group. This finding contrasts with the changes reported in muscle mass, and suggests that slow-protein provided 3 h after the end of resistance exercise improve the muscle performance measured during dynamic actions through mechanisms not directly related to muscle mass. Although no significant difference in muscle mass occurred between WHEY-CAS-3h and WHEY-CAS-NIGHT groups, there were significant increases in muscular strength during dynamic actions. During dynamic exercises, strength performances are not only related to muscle mass, but also to internal or external factors relative to myofibers (Komi et al. 2003). Some of these factors, such as those involved in the force/power-velocity relationship or force production would contribute to explain the differences in dynamic performances reported in the present study between WHEY-CAS-3h and WHEY-CAS-NIGHT groups, with very similar levels of protein intake. Future studies are needed to confirm and clarify the mechanisms at the origin of this finding.

The present results suggest that under our experimental conditions, the most effective nutritional strategy to improve muscle performance could be providing slow-protein 3 h after recovery from resistance exercise. Interestingly, the pattern of exercise and protein provision suggested here as the most effective for muscle performance improvements, is similar to the previously reported, including pre-sleep protein ingestion (Res et al. 2012, Snijders et al. 2015, Trommelen et al. 2017). The main difference lies in the resistance exercise performed in the evening.

In conclusion, the present study suggests that fast-protein ingestion early after resistance exercise, with or without slow-protein provision, lead to substantial and similar increases in muscle growth and isometric strength after 6-wk of resistance training. The additional effects of pre-sleep protein ingestion are strongly dependent from resistance exercise performed in the evening. If resistance exercises are scheduled at the mid-day, the most effective strategy to improve muscle dynamic strength gains during RT, is to provide slow-proteins 3 h after each exercise session.

Table 1. Descriptive characteristics of participants in the four experimental groups, before RT and protein supplementation.

	PLACEBO	WHEY	WHEY+CAS-3h	WHEY+CAS-NIGHT	<i>p</i> value
Age (year)	22 ± 6	23 ± 8	25 ± 4	25 ± 2	<i>N.S</i>
Total body weight (Kg)	76 ± 8	73 ± 7	76 ± 7	73 ± 7	<i>N.S</i>
Height (m)	1.68 ± 0.4	1.62 ± 0.5	1.8 ± 0.6	1.77 ± 0.9	<i>N.S</i>
BMI (Kg/m²)	27	28	23	23	<i>N.S</i>
Fat mass (%)	13 ± 4	15 ± 5	16 ± 4	16 ± 4	<i>N.S</i>

All values are expressed in Mean ± SD. BMI, Body Mass Index. *N.S*, Non Significant

Table 2. Dietary intakes before (baseline) and during the experimental period with supplementation and resistance training (RT).

	PLACEBO		WHEY		WHEY+CAS-3h		WHEY+CAS-NIGHT		Training	Training x Supplement
	Baseline	RT	Baseline	RT	Baseline	RT	Baseline	RT		
Protein (g/Kg/d)	1.2	1.3	1.3	1.6 *	1	1.9 *	1.7	2.3 *	<i>p</i> <0.01	<i>p</i> <0.01
CHO (g/Kg/d)	3.5	3.4	2.8	3	2.8	3.3	3.7	4.3	<i>N.S</i>	<i>N.S</i>
Lipid (g/Kg/d)	0.8	0.8	0.9	0.7	0.7	0.7	1	1	<i>N.S</i>	<i>N.S</i>

*, significant greater change compared to baseline (*p*<0.01) (Mean ± SD)

N.S, Non Significant

Baseline, before the supplementation

RT, during the supplementation and resistance training period

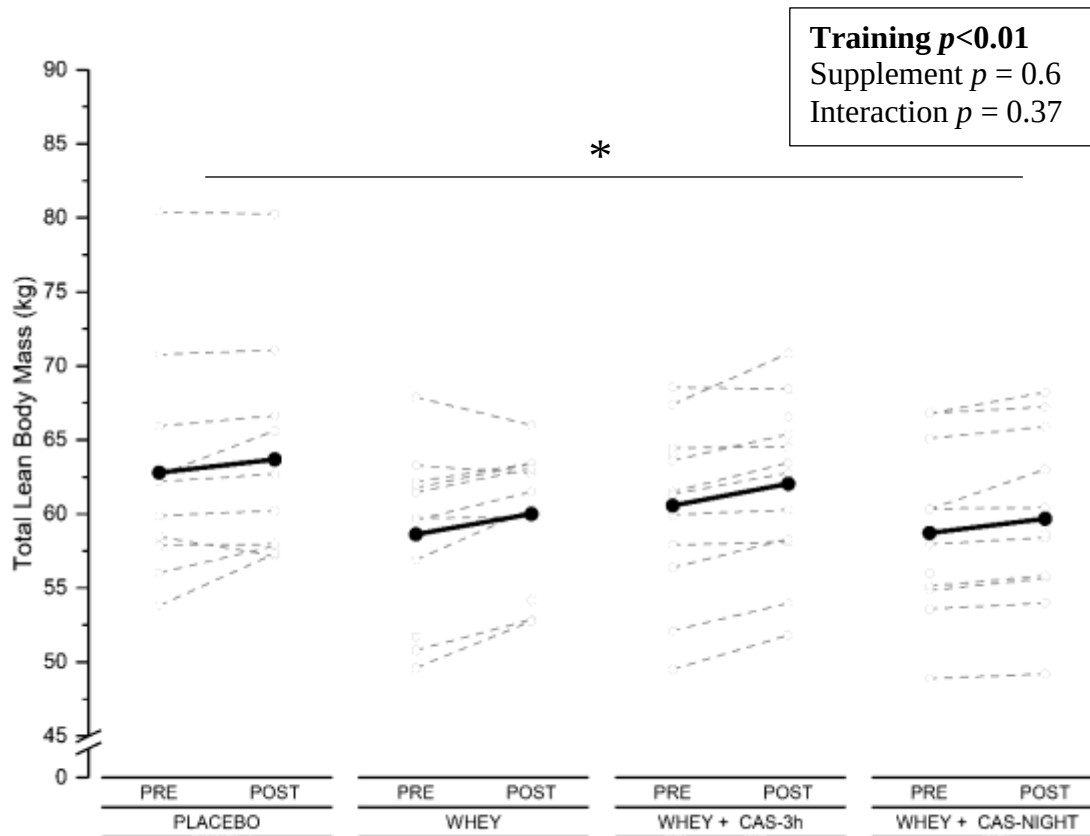


Figure 1. Total lean body mass before (PRE) and after (POST) the 6 weeks resistance-training for the four different groups. The dotted lines in grey represent the individuals values. The dark lines represent the mean for each groups. *, different from PRE ($p < 0.01$).

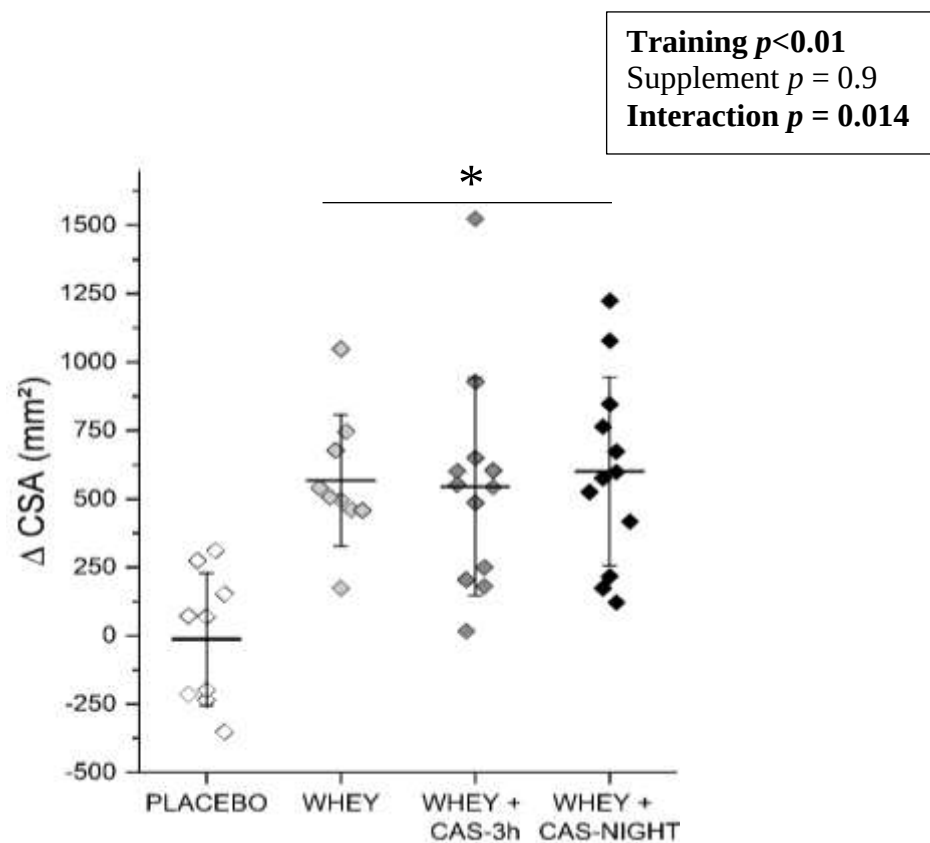


Figure 2. Changes in upper-arm muscle CSA, evaluated by MRI, after 6 weeks of RT. Diamonds represent individual changes. The lines represent the mean ($\pm$ SD). *, different from PRE ($p < 0.01$). CSA, Cross sectional area.

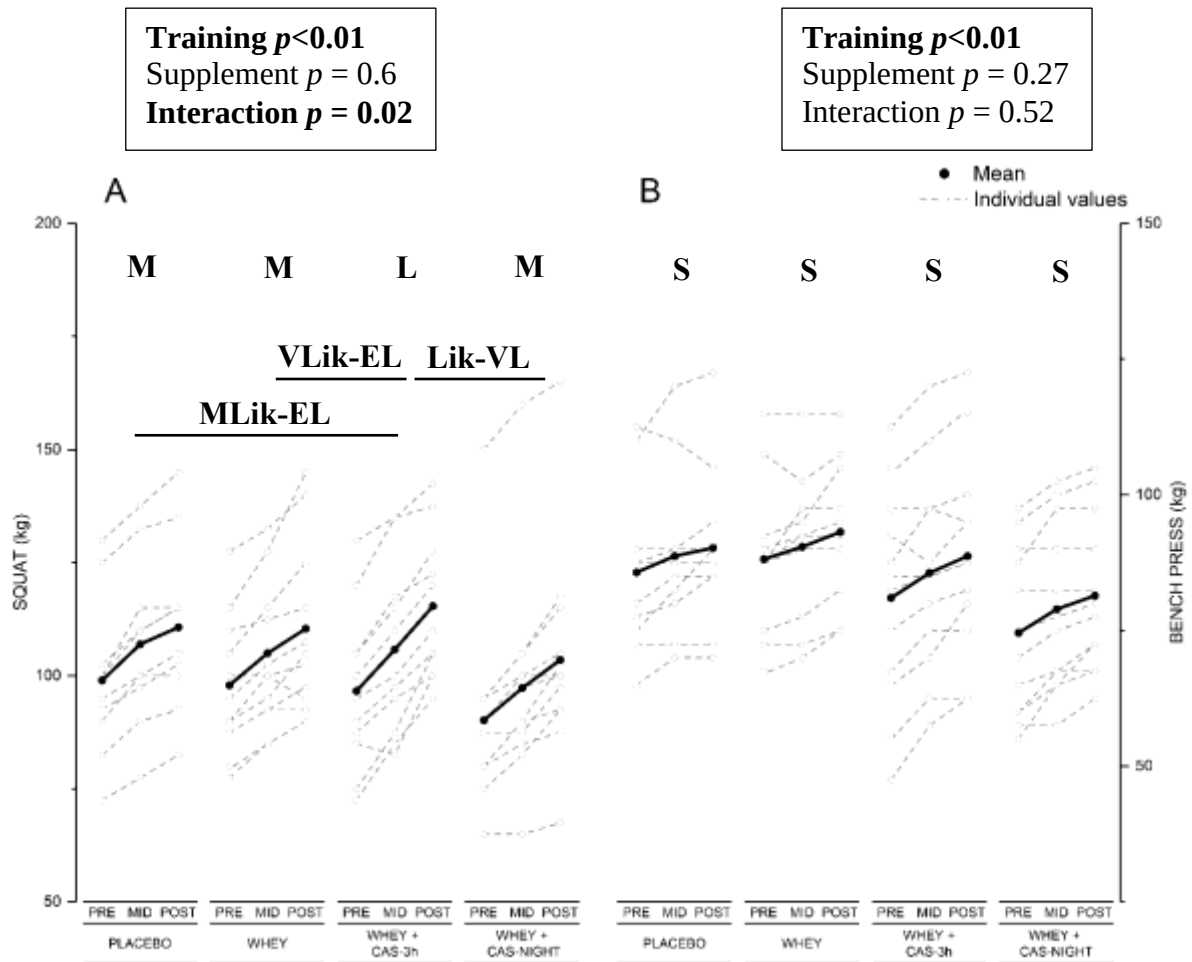


Figure 3. Squat (A) and bench-press (B) performances, before RT (PRE), after 3 weeks (MID) and after 6 weeks of RT (POST). Dotted grey lines represent the individual values. Solid black lines the mean ($\pm$ SD).

Magnitude of within-group changes: S, *small*; M, *moderate*; L, *large*.

Magnitude of between-group changes: VL, *very large*; EL, *extremely large*.

Qualitative chances of higher or lower values: MLik, *most likely*; VLik, *very likely*; Lik, *likely*.

Values are expressed in mean ($\pm$ SD).

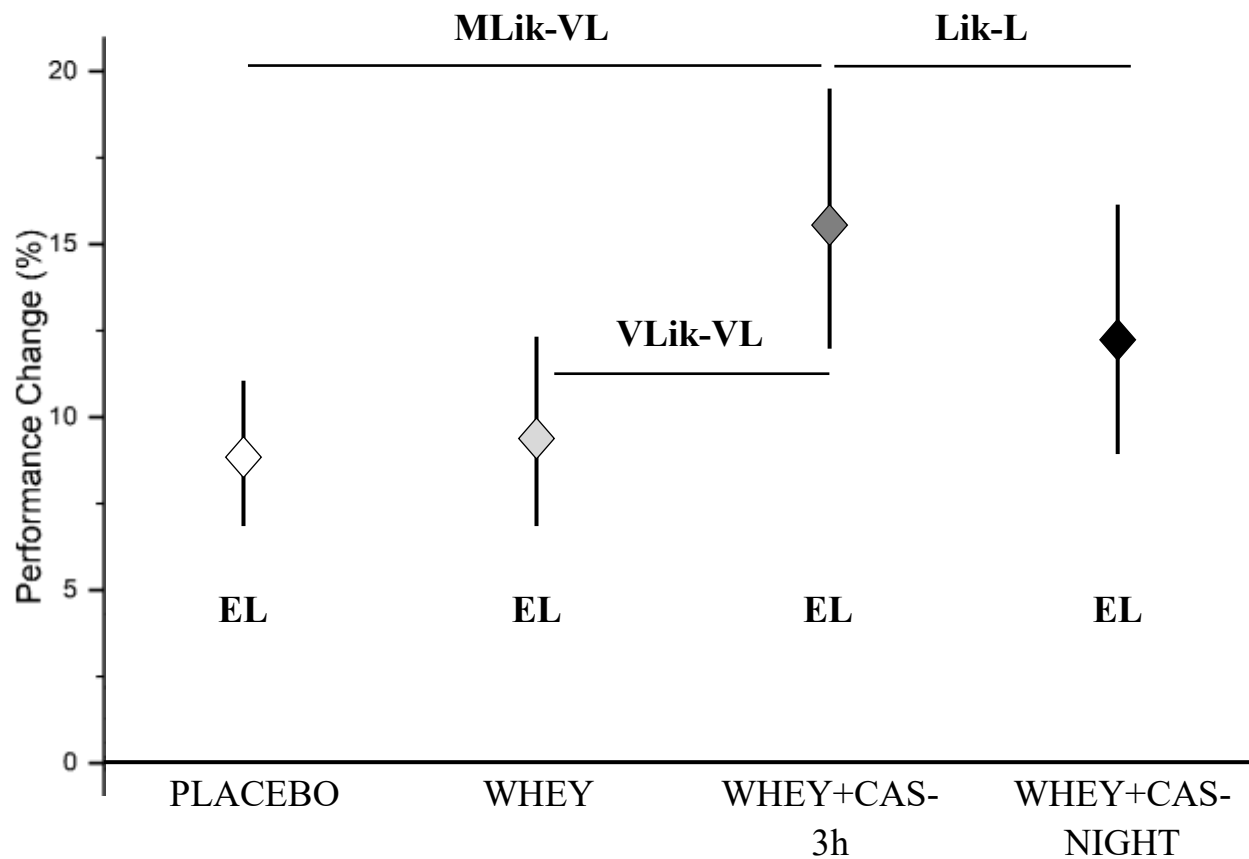


Figure 4. Total performance change (squat + bench-press) during the first three weeks of training (PRE-MID), the three last weeks of training (MID-POST), and for the total period of training (PRE-POST). Diamonds represent the change of performance for the total period of training (% of change, $\pm$ SD).

Magnitude of within-group changes: EL, *extremely large*.

Magnitude of between-group changes: VL, *very large*; L, *large*.

Qualitative chances of higher or lower values: MLik, *most likely*; VLik, *very likely*; Lik, *likely*.

Acknowledgments:

This study was supported by CIFRE contract n°2014/1001.

We acknowledge the contribution of all the authors in this research. The study was designed by Pr. Xavier Bigard, Dr. Eve Tiollier and Marina Fabre; the nutritional program and the interpretation of the nutritional results were undertaken by Dr. Eve Tiollier; the training program was made with the help of Dr. Alexandre Durguerian; the training supervision and strength testing was supervised by Marina Fabre with the help of Odeline Molle and Tanguy Serrenari. Data were collected, analyzed and interpreted by Marina Fabre and Pr. Xavier Bigard. Finally, the manuscript preparation was undertaken by Marina Fabre and Pr. Xavier Bigard. All authors approved the final version of the paper. The authors declare that they have no conflicts of interest in relation to the present study.

References

- Antonio J, Ellerbroek A, Peacock C, Silver T. (2017). Casein Protein Supplementation in Trained Men and Women: Morning versus Evening. *Int J Exerc Sci.* **10(3)**:479-486.
- Areta JL, Burke LM, Ross ML, Camera DM, West DWD, Broad EM, Jeacocke NA, Moore DR, Stellingwerff T, Phillips SM, Hawley JA, Coffey VG. (2013). Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis. *J Physiol.* **591**: 2319–2331.
- Cermak NM, Res PT, de Groot LC, Saris WH, van Loon LJ. (2012). Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* **96**: 1454–64.
- Häkkinen K, Newton RU, Gordon SE, McCormick M, Volek JS, Nindl BC, Gotshalk LA, Campbell WW, Evans WJ, Häkkinen A, Humphries BJ, Kraemer WJ. (1998). Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* **53(6)**:B415-23.
- HopkinsWG, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. (2009). Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Med Sci Sports Exerc.* **41**: 3-13.
- Jager R, Kerksick CM, Campbell BI, Cribb PJ, Wells SD, Skwiat TM, Purpura M, Ziegenfuss TN, Ferrando AA, Arent SM, Smith-Ryan AE, Stout JR, Arciero PJ, Ormsbee MJ, Taylor LW, Wilborn CD, Kalman DS, Kreider RB, Willoughby DS, Hoffman JR,

- Krzykowski JL and Antonio J. (2017). International Society of Sports Nutrition Position Stand: protein and exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* **14**: 20.
- Komi PV. (2003). Strength and power in sport. Vol III of the encyclopaedia of sports medicine. An IOC medical commission production. *Blackwell Science.* pp. 540.
- Mitchell CJ, Churchward-Venne TA, Parise G, Bellamy L, Baker SK, Smith K, Atherton PJ, Phillips SM. (2014). Acute post-exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training-induced muscle hypertrophy in young men. *PLoS One.* **9(2)**: E89431.
- Mitsiopoulos N, Baumgartner RN, Heymsfield SB, Lyons W, Gallagher D, Ross R. (1998). Cadaver validation of skeletal muscle measurement by magnetic resonance imaging and computed tomography. *J Appl Physiol.* **85**: 115-122
- Naclerio, F. and Larumbe-Zabala, E. (2016). Effects of Whey Protein Alone or as Part of a Multi-ingredient Formulation on Strength, Fat-Free Mass, or Lean Body Mass in Resistance-Trained Individuals: A Meta-analysis. *Sports Med.* **46(1)**:125-37.
- Res PT, Groen B, Pennings B, Beelen M, Wallis GA, Gijsen AP, Senden JM, Van Loon LJ. (2012). Protein ingestion before sleep improves postexercise overnight recovery. *Med Sci Sports Exerc.* **44**: 1560–9.
- Snijders T, Res PT, Smeets JS, van Vliet S, van Kranenburg J, Maase K, Kies AK, Verdijk L B and van Loon LJ. (2015). Protein Ingestion before Sleep Increases Muscle Mass and Strength Gains during Prolonged Resistance-Type Exercise Training in Healthy Young Men. *J Nutr.* **145(6)**: 1178-1184.
- Trommelen J, van Loon LJC. (2016). Pre-sleep protein ingestion to improve the skeletal muscle adaptive response to exercise training. *Nutrients.* **8**:763.

Conclusions et applications pratiques de l'étude

Il s'agit de la première étude à avoir étudié le moment d'apport optimal de la supplémentation en caséine, dans le cadre d'un entraînement en musculation réalisé le matin.

Les données de cette étude confirment l'intérêt de l'ingestion de protéines rapides après chaque session d'entraînement afin d'améliorer le gain de masse musculaire en réponse à un entraînement en musculation. A cet apport de lactosérum immédiatement après la séance, la supplémentation en caséine (3h après la séance ou avant le coucher) ne permet pas de majorer le gain de masse musculaire, comparée à une supplémentation en lactosérum seule. En revanche, la probabilité d'augmenter la force maximale anisométrique semble supérieure avec l'apport de caséine 3h après la fin de la séance, comparée à la prise de caséine avant le coucher, la prise de lactosérum seule, ou l'apport placebo.

Il semblerait donc que l'apport de caséine, quel que soit le moment d'apport, ne permet pas de majorer le gain de masse musculaire comparé à un apport de lactosérum. Cependant, la prise de caséine 3h après la fin de chaque séance d'entraînement, pourrait être une stratégie efficace pour maximiser les gains de force dans le cadre d'un entraînement en musculation.

D'un point de vue pratique, la prise de 20g de lactosérum après chaque séance de musculation, permet de majorer le gain de masse musculaire. Lorsque l'entraînement est réalisé en fin de matinée, une supplémentation de 30g de caséine, 3h après la fin de l'entraînement peut maximiser le gain de force maximale anisométrique. En revanche, dans ces conditions d'entraînement, la prise de caséine avant le coucher ne semble pas nécessaire pour l'amélioration des performances musculaires.

DISCUSSION GÉNÉRALE

DISCUSSION GÉNÉRALE

Le contexte général de cette thèse s'inscrit dans la recherche de stratégies nutritionnelles de récupération optimales dans le cadre d'un entraînement en musculation de plusieurs semaines. Nous nous sommes en particulier intéressés à l'impact d'apports en protéines de lait sur les réponses musculaires à un programme d'entraînement en musculation (hypertrophie et développement de la force).

Les objectifs principaux de ce travail sont :

- 1) Vérifier s'il existe un rapport optimal entre protéines « rapides » (lactosérum) et protéines « lentes » (caséine) permettant de maximiser les réponses musculaires à un entraînement en musculation.
- 2) Evaluer l'intérêt d'apports en caséine dans le contexte d'un entraînement en musculation.
- 3) Identifier le moment d'apport optimal de la caséine dans le cadre d'un entraînement en musculation réalisé en fin de matinée.

Les principaux résultats sont les suivants :

- 1) Après l'exercice, la disponibilité plasmatique en leucine est majorée lorsque la proportion de protéines rapides est supérieure ou égale à la proportion de protéines lentes, comparé à la situation inverse (plus de caséine que de lactosérum) ; mais ceci ne se traduit pas par des gains de masse musculaire ou de force supérieurs. (Etude 1)
- 2) La prise de 20g de protéines de lactosérum, après chaque séance, permet de maximiser les réponses musculaires à un entraînement en musculation, comparé à un apport placebo non-énergétique. L'ajout d'un deuxième supplément apportant 30g de caséine n'a pas d'effet additif sur le gain de masse musculaire, mais pourrait par ailleurs majorer le gain de force. (Etude 2)
- 3) Dans le cadre d'un entraînement en musculation réalisé en fin de matinée, l'apport de caséine 3h après la fin de chaque séance de musculation, permet de majorer le gain de force comparé à la prise de caséine avant le coucher. (Etude 2)

La grande majorité des études sur l'optimisation des apports protéiques en récupération de séances de musculation, sont réalisées à la suite d'un exercice unique. Or, les réponses musculaires à un exercice unique de musculation ne sont pas corrélées aux réponses hypertrophiques du muscle à la suite d'un programme complet de musculation (Mitchell et al. 2014). Il paraît donc indispensable de replacer ces questions d'optimisation des apports protéiques dans une situation d'entraînement de plusieurs semaines. Dans ce contexte, il convient de s'interroger sur les facteurs susceptibles d'influencer les réponses hypertrophiques. Cette discussion abordera successivement i) la supplémentation en protéines de lait (lactosérum et/ou caséine) et ses effets sur l'hypertrophie musculaire, ii) le lien entre la masse musculaire et la production de force, et iii) la notion de « bons » et « mauvais » répondeurs à l'ingestion des protéines et à l'entraînement.

Supplémentation en protéines (lactosérum et/ou caséine) et développement de la masse musculaire

Dans le cadre d'un exercice unique, la disponibilité plasmatique en AAE et en particulier en leucine apparaît comme un déterminant majeur de l'augmentation des synthèses protéiques (Phillips 2017). Dans le cadre d'un entraînement, l'intérêt de la disponibilité plasmatique en AAE reste à définir. En période d'entraînement de plusieurs semaines, il convient de prendre en compte l'apport protéique total de la journée. Dans quelle mesure cet apport influence-t-il la prise de masse musculaire dans le cadre d'un entraînement en musculation ? Enfin, la prise de suppléments en protéines au cours de la journée entraîne une augmentation des apports protéiques totaux, comparativement aux apports protéiques quotidiens habituels. Dans quelle mesure cette différence par rapport à l'apport protéique habituel joue-t-elle un rôle dans les réponses hypertrophiques ?

En résumé, dans cette partie, nous tenterons de préciser, à la lumière de nos résultats, quels sont le ou les facteur(s) susceptible(s) d'influencer le gain de masse musculaire dans un contexte d'entraînement, en prenant en compte les facteurs suivants :

- la disponibilité immédiate en AAE et en leucine,
- la disponibilité prolongée en AAE et en leucine,
- la quantité totale de protéine sur la journée,
- l'augmentation de l'apport protéique sur la journée par rapport aux apports habituels.

Disponibilité en AAE et leucine et gain de masse musculaire

Dans ce travail de thèse nous avons étudié l'intérêt d'une disponibilité accrue en acides aminés et en leucine, soit immédiatement après l'exercice (apport de protéines de lactosérum immédiatement après la séance de musculation), soit de manière prolongée après l'exercice (ajout de caséine, que ce soit au sein d'une boisson immédiatement après l'exercice ou différé de 3h) sur les réponses de la masse musculaire à l'entraînement en musculation.

- **Disponibilité immédiate d'AAE et de leucine dans le plasma**

Nos résultats montrent que la concentration maximale d'acides aminés dans le plasma est atteinte en moyenne 30 minutes après l'ingestion pour les trois boissons (FP(100), FP(50), FP(20)), sans différence entre celles-ci. Ces résultats sont cohérents avec ceux publiés dans l'étude de Burke et al. (2012), qui démontrent qu'après l'ingestion de lait, la concentration maximale en acides aminés est atteinte au bout de 30 minutes également, tant au repos qu'après l'exercice. Nous montrons que les boissons enrichies, ou ne contenant que des protéines de lactosérum (respectivement FP(50) et FP(100)), induisent une plus forte élévation de la concentration plasmatique en leucine, sur les 2h de récupération post-exercice, comparées à la boisson iso-azotée, contenant seulement 20% de lactosérum (i.e. FP(20)). Ces résultats sont en accord avec ceux récemment publiés dans l'étude de Hamarsland et al. (2017), dans laquelle les auteurs ont observé une plus forte concentration plasmatique en leucine après l'exercice et l'ingestion de protéines de lactosérum comparé au lait. L'ensemble des études montre donc une plus forte concentration en leucine après l'ingestion de protéines de lactosérum comparé au lait, tant au repos (Mitchell et al. 2015) qu'après l'exercice (Fabre et al. 2017, Hamarsland et al. 2017).

Nos boissons expérimentales ont une légère différence de contenu en leucine (i.e. 1,9 ; 1,3 et 1,1g, respectivement pour les boissons FP(100), FP(50) et FP(20)). Il est vraisemblable que les différences de disponibilité plasmatique en leucine entre les boissons soient liées aux différences de teneur en leucine (Burke et al. 2012, Raastad et al. 2017). En effet, Raastad et al. (2017) ont démontré que la concentration plasmatique en leucine est significativement supérieure après l'ingestion de 16g de protéines de lactosérum comparé à l'apport d'un isolat iso-azoté de protéines de saumon. En revanche, la concentration plasmatique en glycine est supérieure après l'ingestion des protéines de saumon. Ceci puisque la teneur en leucine est plus élevée dans la protéine de lactosérum (i.e. 1,9 vs 0,8g), et celle de glycine, plus concentrée dans

la protéine de saumon (i.e. 2,2 vs 0,3g) (Raastad et al. 2017). **La disponibilité immédiate en leucine dépend alors de la concentration présente dans la boisson protéinée.**

Nous avons mesuré le lien potentiel entre le gain de masse maigre et la disponibilité plasmatique maximale en leucine (Figure 28). Pour cela, les 31 participants à notre première étude ont été classés selon trois groupes en fonction de leur gain de masse musculaire : « gains importants » (ceux qui augmentent leur masse maigre de plus de 3kg), « gains moyens » (gains de masse maigre compris entre 1 et 3kg) et « gains faibles » (gains de masse maigre inférieurs à 1kg). Les « gains importants » sont retrouvés chez les participants ayant les disponibilités plasmatiques en leucine les plus augmentées ($162 \pm 37 \mu\text{mol/L}$), suivi des sujets ayant des « gains moyens » ($138 \pm 52 \mu\text{mol/L}$) et des sujets ayant des « gains faibles » ($121 \pm 71 \mu\text{mol/L}$).

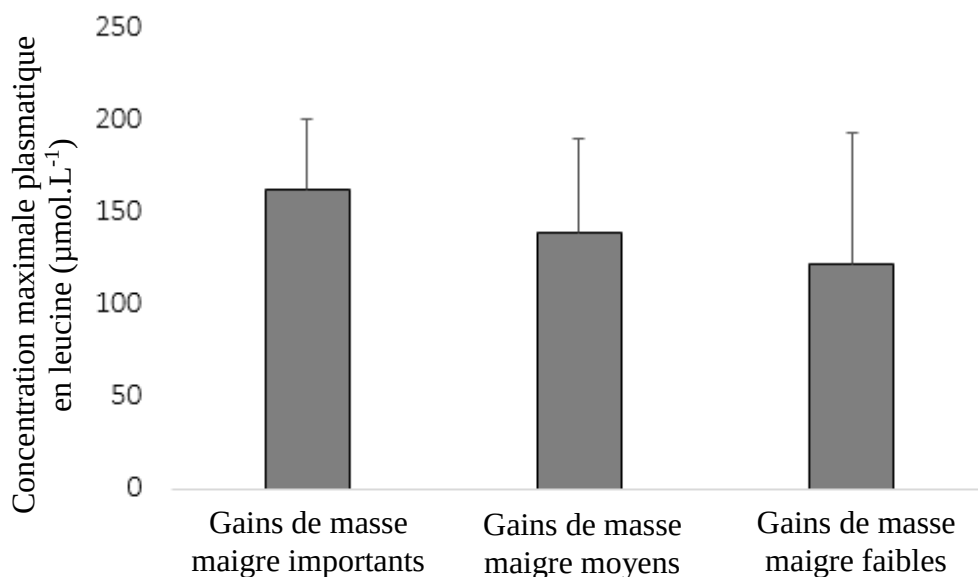


Figure 28. Représentation schématique du gain de masse maigre en fonction de la concentration plasmatique maximale de leucine. La concentration plasmatique maximale de leucine (exprimée en $\mu\text{mol.L}^{-1}$) est mesurée à la suite d'un exercice de musculation et de l'ingestion de boissons contenant 20g de protéines. Les trois groupes ont été constitués selon leur gain de masse musculaire (en kg) après 9 semaines d'entraînement en musculation. Gains importants (>3kg), gains moyens (entre 1 et 3kg), faibles gains (<1kg). Aucun effet d'interaction n'existe entre les gains de masse maigre et la concentration plasmatique maximale en leucine ($p > 0,05$). Significativité à partir de $p < 0,05$.

Cependant, ces variations ne sont pas statistiquement différentes entre les groupes ($p = 0,5$) (Figure 28). Par ailleurs, la corrélation entre le gain de la masse maigre et l'élévation maximale de la concentration plasmatique en leucine est faible et non significative ($r = 0,18$; $p = 0,3$;

Figure 29). Il semblerait donc que la disponibilité plasmatique maximale en leucine ne soit pas un critère principal dans la réponse à un entraînement en hypertrophie, du moins dans nos conditions expérimentales.

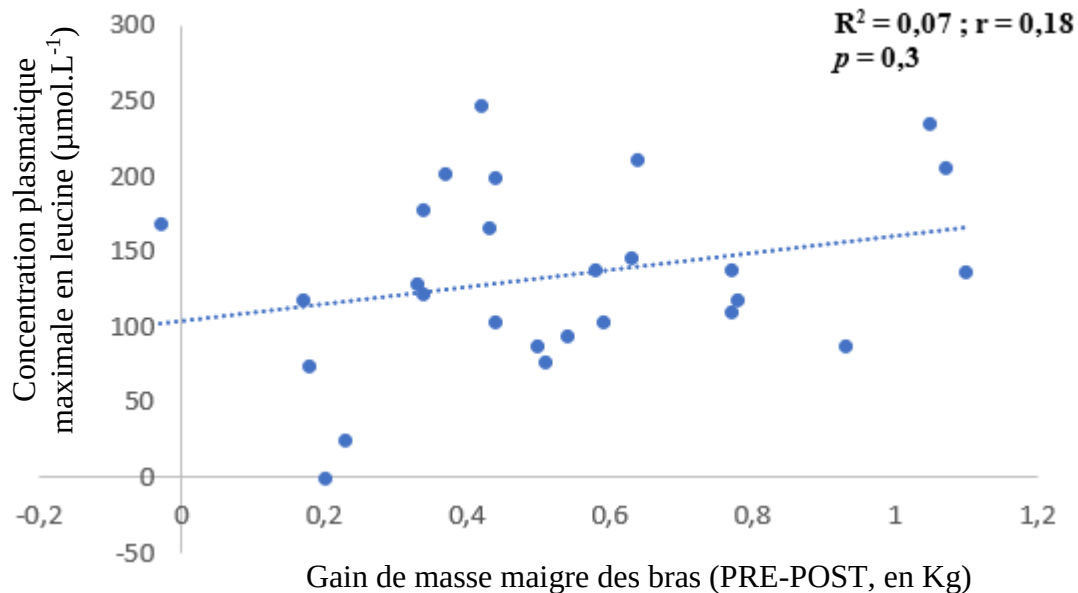


Figure 29. Gain de masse maigre des bras après 9 semaines d'entraînement en musculation en fonction de la concentration plasmatique maximale en leucine après un exercice et l'ingestion de boissons contenant 20g de protéines. Significativité à partir de $p < 0,05$.

Ce résultat est cohérent avec les données de la littérature scientifique, qui mettent en évidence une discordance entre la disponibilité plasmatique en acides aminés, les synthèses des protéines musculaires et les réponses hypertrophiques (volume musculaire) à un entraînement en musculation (pour revue, McGlory and Phillips 2015). Les travaux de Mitchell et al. (2015) indiquent, d'une part, qu'une augmentation de la disponibilité en leucine ne se traduit pas par une majoration des synthèses protéiques (Mitchell et al. 2015). D'autre part, l'amplitude de l'augmentation de la protéosynthèse à la suite d'un exercice unique de musculation, n'est pas corrélée au gain de masse musculaire en réponse à un entraînement en musculation (Mitchell et al. 2014).

Iannoli et collaborateurs expliquent qu'il existe probablement une limite dans la capacité de transport des acides aminés plasmatiques vers les tissus musculaires, de telle sorte que les acides aminés mesurés dans le plasma ne seront pas forcément retrouvés au niveau des tissus musculaires (Iannoli et al. 1999).

Parmi les autres facteurs explicatifs, nous pouvons évoquer le fait que les mesures de synthèse protéiques et de disponibilité en acides aminés plasmatiques sont réalisées dans des

conditions de laboratoire très standardisées. Or, au cours des études menées sur plusieurs semaines d'entraînement, certains facteurs environnementaux (manque de sommeil, stress, activité physique hors entraînement, travail, consommation d'alcool, disponibilité énergétique, motivation, infection, fatigue) peuvent interférer avec les réponses de la masse musculaire. Ces biais peuvent être, en partie, responsables de ces discordances des réponses musculaires à l'issue d'un exercice et d'un entraînement. Dans notre étude, les participants avaient des consignes scrupuleuses concernant l'entraînement, l'alimentation, la consommation d'alcool et le sommeil. Ils ont rempli un questionnaire quotidien comprenant des échelles visuelles analogiques de perception de la fatigue, la digestibilité et la qualité du sommeil. Les résultats révèlent une bonne observance des recommandations, et aucune différence entre les groupes.

- **Disponibilité prolongée d'AAE et de leucine dans le plasma**

La caséine étant assimilée lentement, permet une disponibilité en AAE et en leucine différée, par comparaison au comportement des protéines à assimilation rapide. A titre d'hypothèse, on peut considérer que l'ajout de caséine aux protéines de lactosérum (protéines rapides) permettrait d'activer les synthèses protéiques sur une période prolongée. Théoriquement, et sur un laps de temps plus long (6-7 heures), les synthèses protéiques seraient donc supérieures. Ceci pourrait potentiellement majorer les réponses hypertrophiques à l'entraînement. Nous avons testé l'efficacité d'un tel apport, soit par l'ajout de caséine immédiatement après l'exercice (Etude 1), soit par l'ajout d'un apport de caséine 3 heures après chaque séance de musculation (Etude 2).

Nos résultats n'indiquent pas de bénéfice d'une disponibilité plasmatique prolongée d'AA. Pour autant, il semble nécessaire de noter que, dans nos deux études - étant réalisées dans des conditions de « terrain », intégrant l'entraînement au rythme de vie quotidien - les sujets consommaient un repas entre 1 à 3 heures après leur entraînement. L'analyse des journaux alimentaires révèle un apport conséquent de protéines au cours du repas suivant l'exercice. Dans l'étude 1, l'apport de protéines au dîner s'élève en moyenne à 53g, alors que dans l'étude 2, le déjeuner suivant la séance de musculation apporte en moyenne 44g de protéines. Ainsi, l'effet potentiel de la caséine présente dans les boissons de supplémentation, que ce soit dans l'étude 1 ou l'étude 2, peut avoir été masqué par l'apport conséquent des protéines à assimilation lente ingérées lors du repas post-exercice. C'est la raison pour laquelle les recommandations d'apport de protéines lentes doivent prendre en considération le rythme de vie du sportif et ses horaires de repas (et collations).

Il aurait fallu tester l'effet d'un mélange de protéines de caséine et de lactosérum, sans prise de repas dans les 4h post-exercice. Nous n'avons pas fait ce choix dans nos protocoles car cela aurait impliqué la prise du déjeuner après 15h (Etude 2) ou du dîner au-delà de 22h (Etude 1). Par ailleurs, nous avons souhaité nous rapprocher des conditions réelles d'entraînement et de rythme de vie des sportifs élités, qui s'entraînent généralement en musculation, en fin de matinée ou en fin de journée. Ainsi, quelle que soit la situation, leur repas se situe entre 1 à 2h après la fin de l'exercice.

Influence des apports protéiques totaux quotidiens sur le gain de masse dans le cadre d'un entraînement en musculation

Dans la mesure où nos protocoles de recherche se situent dans un contexte de pratique de terrain, il convient de prendre en considération l'influence potentielle de tous les apports protéiques de la journée. Dans ce cadre, les apports protéiques habituels (avant de commencer l'étude), pendant le protocole et l'augmentation d'apport que représentent les suppléments sont étudiés.

Apports quotidiens en protéines sur la journée

Dans nos deux études, nous ne retrouvons pas de corrélation entre les apports protéiques quotidiens et le gain de masse musculaire (Etude 1, $r = 0,11$; $p > 0,05$; Etude 2, $r = 0,13$; $p > 0,05$). Dans la lignée de ce résultat, dans l'étude 2, bien que certains groupes ont des apports protéiques quotidiens similaires (groupes WHEY et PLACEBO), les réponses musculaires à l'entraînement sont différentes (gains de masse maigre et de force supérieurs pour le groupe WHEY). Tarnopolsky et al. (1992), est un des premiers à démontrer que, pour des sportifs s'entraînant en musculation, les besoins protéiques quotidiens sont supérieurs aux personnes sédentaires. Cependant, l'apport protéique de 2,4g/kg/J ne permet pas d'améliorer la balance azotée ni de majorer les gains de masse musculaire comparé à un apport protéique de 1,4g/kg/J (Tarnopolsky et al. 1992). Plus tard, Antonio et al. (2015) confirment cette notion « d'apport maximal en protéine » dans le cadre d'un entraînement, et démontrent qu'un apport protéique quotidien de 3,4g/kg n'induit pas une majoration du gain de masse musculaire comparé à une prise protéique de 2g/kg/J. **Ces constatations renforcent le manque de lien entre la quantité de protéines apportée chaque jour, et le gain de masse musculaire.**

Cette absence de relation pourrait s'expliquer par les apports déjà conséquents en protéines retrouvés chez nos participants et ceux de l'étude d'Antonio et collaborateurs. Les

apports protéiques conseillés et déterminés par l'AFSSA (2007) pour le gain de masse musculaire dans le cadre d'un entraînement en musculation, se situent entre 1,8 et 2g/kg/J. Les groupes WHEY, WHEY+CAS-3h et WHEY+CAS-NIGHT ont des apports protéiques, en moyenne, proches ou supérieurs à 1,8g/kg/J. Ainsi, une des explications potentielles à cette absence de plus-value de la supplémentation de 30g de caséine, pourrait être liée aux apports protéiques quotidiens, déjà importants avec la supplémentation de 20g de protéines de lactosérum. En effet, dans notre étude, les deux groupes supplémentés en caséines auraient eu des apports protéiques de 1,6g/kg/J et 1,9g/kg/J respectivement pour les groupes WHEY+CAS-3h et WHEY+CAS-NIGHT, sans la supplémentation de 30g de caséine. Nous pouvons supposer que, dans ces conditions, l'ajout de 30g de caséines ne permet pas de maximiser les gains hypertrophiques à un entraînement. En accord avec cette hypothèse, dans la seule étude montrant un gain de masse musculaire majoré avec une supplémentation en caséine avant le coucher - comparé à un apport placebo non-énergétique - le groupe supplémenté a des apports en protéines quotidiens sous maximaux, de l'ordre de 1,3g/kg/J en moyenne sans la supplémentation en caséine (Snijders et al. 2015).

En pratique, afin d'observer un effet de la supplémentation en protéines dans un contexte de mise à l'entraînement pendant plusieurs semaines, peut-on alors envisager de réduire les apports en protéines par les repas (et de contrôler leur baisse) ? Dans nos protocoles, nous avons fait le choix de nous placer dans un contexte d'entraînement en situation « écologique ». En effet, les participants continuent de suivre leur rythme de vie habituel, et maintiennent leurs habitudes alimentaires. Finalement, si les apports alimentaires suffisent à maximiser les réponses de la masse musculaire, nous ne voyions pas d'intérêt à réduire les apports alimentaires lors des repas, pour réaliser un apport complémentaire en caséines.

L'ensemble de ces données suggère donc que lorsque l'apport protéique est suffisant, la supplémentation en caséine n'est pas nécessaire. Probablement que nos résultats auraient pu être différents en conditions de sous apports énergétiques et/ou protéiques. Ces conditions ne semblent pas être celles de sportifs entraînés en musculation, mais plutôt d'une population à risque de sous-nutrition telle que les personnes âgées, par exemple (Walrand et al. 2008).

Augmentation par rapport aux apports quotidiens habituels en protéines

Dans la deuxième étude, les trois groupes supplémentés en protéines ont eu des apports protéiques significativement supérieurs pendant l'entraînement, par comparaison à leurs apports habituels, sans supplémentation ($p<0,01$). En revanche, ce n'est pas le cas pour le

groupe PLACEBO, qui ne modifie pas ses apports en protéines ($p = 0,4$). La consommation protéique est passée de 1,2 à 1,3g/kg/J ; de 1,3 à 1,6g/kg/J ; de 1 à 1,9g/kg/J et de 1,7 à 2,3g/kg/J pour les groupes PLACEBO, WHEY, WHEY+CAS-3h et WHEY+CAS-NIGHT, respectivement.

Le changement d'apport protéique est donc en moyenne de 0,1g/kg/J pour le groupe PLACEBO, 0,3g/kg/J pour le groupe WHEY, 0,6g/kg/J pour le groupe WHEY+CAS-NIGHT et 0,9g/kg/J pour le groupe WHEY+CAS-3h. Or, il est suggéré que les changements d'apports en protéines constituent un des facteurs prédictifs des effets bénéfiques d'une supplémentation en protéines lors d'un entraînement en musculation (Bosse and Dixon 2012). Cette théorie propose qu'il doit y avoir un changement suffisamment important lors de la période de supplémentation - comparée aux habitudes de consommation en protéines initiales - afin d'observer des gains de masse maigre et de force en réponse à une supplémentation en protéines (Bosse and Dixon 2012). En accord avec ce principe, nos résultats soulignent l'existence d'une corrélation entre les changements d'apports protéiques (exprimés en g/kg/J) et le gain de masse musculaire du bras (évalué par les mesures de surfaces de section musculaires sur coupes transversales du bras effectuées par imagerie médicale, CSA, exprimée en mm²) ($r = 0,4$; $p = 0,01$; Figure 29). En revanche, avec les valeurs de masse maigre du bras (évaluée par DEXA), ce lien n'est pas démontré. Communément, la masse musculaire est évaluée par la méthodologie de l'absorptiométrie biphotonique à rayon X (appelée DEXA). Or, la méthode la plus précise dans l'évaluation de la masse musculaire, est la mesure de la CSA par imagerie médicale ou par tomodensitométrie. Celle-ci représente le « *gold standard* » dans l'évaluation de la masse musculaire (Pahor et al. 2009).

En résumé, **parmi les différents facteurs pris en compte dans nos études, celui qui apparaît comme le plus prédictif du gain de masse musculaire est l'augmentation des apports protéiques totaux sur la journée.** Il convient de rester prudent sur l'interprétation de cette constatation car le contrôle des apports alimentaires - par le biais d'un journal alimentaire - était réalisé seulement 2 jours par semaine pendant les 6 semaines d'entraînement. Il ne peut être exclu le fait que d'autres apports en protéines puissent être manqués.

Pour autant, la constitution de groupes homogènes, tant sur la masse maigre que sur les habitudes alimentaires, apparaît de première importance dans ces études mesurant les réponses hypertrophiques à un entraînement. A cet égard, dans les recherches futures, il paraît pertinent de randomiser les groupes selon leur consommation protéique habituelle.

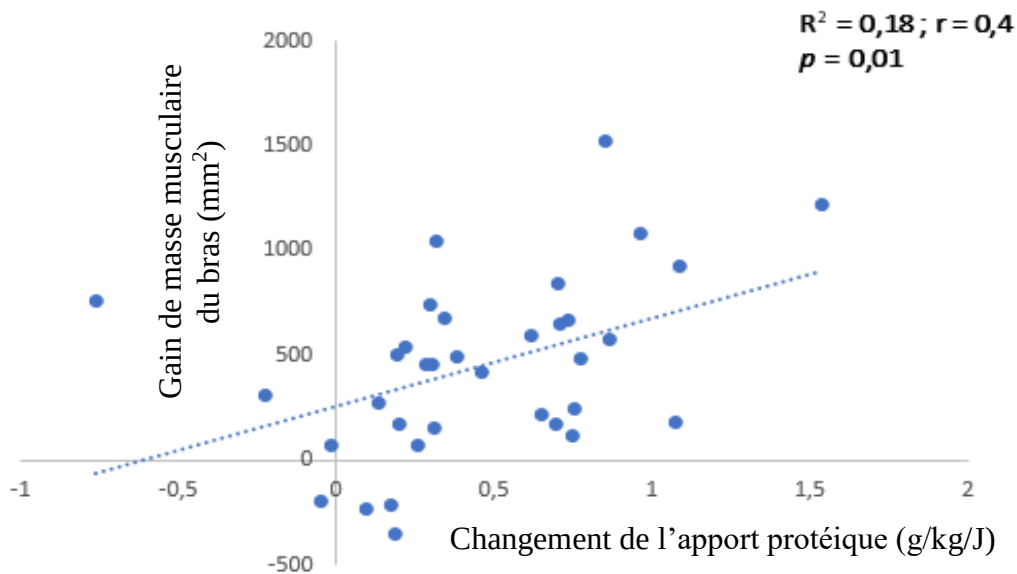


Figure 29. *Corrélation positive entre l'augmentation de la masse musculaire du bras (CSA, en mm²) et l'augmentation de l'apport en protéines (exprimé en g/kg de poids de corps/jour d'entraînement) par rapport aux habitudes alimentaires initiales.*

Lien entre masse musculaire et performance en force

Dans la première étude, nous observons une corrélation positive entre le gain de force et de masse musculaire dès les trois premières semaines d'entraînement ($r = 0,4$; $p = 0,023$). Or, la capacité de production de force dépend de plusieurs facteurs tels que l'activation neuromusculaire, la technique, la masse musculaire, la fatigue, la coordination. Il est souvent admis que lors des premières semaines d'entraînement, le gain de force est principalement le résultat de l'amélioration du système neuro-musculaire, de la coordination des unités motrices et de la technique. Puis à partir de 4 à 6 semaines d'entraînement en musculation, la force augmentée résulte majoritairement d'un gain de masse musculaire (Sale 1988, Gabriel et al. 2006). Dès 3 semaines d'entraînement dans notre étude, le gain de force est corrélé au gain de masse maigre. Ceci probablement car la population choisie est constituée de sportifs déjà entraînés en musculation (à raison de 2 à 3 fois par semaine). De plus, ils ont suivi trois semaines d'entraînement en familiarisation (avec 3 séances types par semaine) et un test de force de familiarisation avant de commencer le protocole d'entraînement et les premières mesures (force et composition corporelle). L'objectif de cette phase de familiarisation est de limiter l'impact des adaptations, autres que le gain de masse musculaire, sur le gain de force dans nos résultats. Afin de pouvoir interpréter au mieux les résultats de la force et de la masse musculaire, l'entraînement en familiarisation ainsi que la sélection des participants selon un niveau d'entraînement homogène est de grande importance.

Dans la seconde étude, nous observons un gain de masse musculaire supérieur pour les trois groupes supplémentés (WHEY, WHEY+CAS-3h et WHEY+CAS-NIGHT) comparés au groupe PLACEBO. Associés à ces effets trophiques, lors des trois dernières semaines d'entraînement, la force maximale anisométrique est significativement majorée pour les trois groupes supplémentés en protéines, mais pas pour le groupe PLACEBO. Ces résultats confirment le lien direct existant entre la masse maigre et la capacité de production de force. En revanche, la probabilité d'augmenter la force anisométrique, lors des trois dernières semaines d'entraînement, est supérieure pour le groupe WHEY+CAS-3h comparé aux groupes PLACEBO (*most likely*), WHEY (*very likely*) et WHEY+CAS-NIGHT (*likely*) (méthode statistique de *Hopkins, magnitude-based inferences*). Nous distinguons donc, un gain de force majoré pour le groupe supplémenté en caséine 3h après l'entraînement, sans que ce groupe n'ait bénéficié d'un gain de masse maigre supérieur. Pourtant l'analyse des données des 45 participants à cette étude, démontre bien l'existence d'une corrélation entre le gain de masse maigre et le gain de force à l'issue des 6 semaines d'entraînement ($r = 0,5$; $p = 0,001$).

Une des hypothèses explicatives à ces résultats repose sur le fait que l'apport de caséine 3h après l'exercice pourrait améliorer la récupération musculaire et limiter l'apparition de la fatigue, favorisant ainsi la capacité de production de force maximale lors des tests de performance. Les tests de force étaient réalisés 2 jours après le dernier entraînement pour tous. D'après Pritchard et al. (2016), il est nécessaire de laisser au minimum 2 jours entiers de récupération avant une performance musculaire. Mais la durée de cessation optimale est de 4 jours, sans dépasser une semaine (Pritchard et al. 2016). Il est donc probable que dans notre étude, les participants n'aient pas complètement récupéré de leur dernière séance d'entraînement, lors des tests de performance musculaire. Dans ce cas, nous supputons que la prise de caséine 3 heures après la fin de la séance permettrait de favoriser la récupération musculaire, par des mécanismes qui restent à élucider.

Notion de « bon » et « mauvais » répondeurs

Dans nos deux études, nous observons des variations de masse maigre très hétérogènes au sein d'un même groupe. Par exemple, pour la première étude, les variations de la masse maigre s'étendent de -0,1 à 5,4kg. Dans la deuxième étude, les changements vont de -1,3 à 3,5kg, de -1,8 à 3,4kg, de -0,1 à 3,4kg et de -0,14 à 2,7kg pour les groupes PLACEBO, WHEY, WHEY+CAS-3h et WHEY+CAS-NIGHT, respectivement. Ces fortes disparités des réponses musculaires à un même entraînement et à l'apport protéique sont retrouvées dans la plus part

des études à ce sujet (Hubal et al. 2005, Hartman et al. 2007, Mitchell et al. 2014, Fabre et al. 2017). Ce phénomène illustre bien la notion de « bons » et de « mauvais » répondeurs. Nos résultats soulignent également l'extrême variabilité de la disponibilité plasmatique en AA, après l'exercice et l'ingestion d'une boisson protéinée (Fabre et al. 2017).

Plusieurs mécanismes moléculaires impliqués dans l'hypertrophie, l'atrophie et la modification du phénotype musculaire suite à l'exercice et à l'ingestion de protéines, sont sujets à forte variabilité en fonction des individus (Iannoli et al. 1999, Mitchell et al. 2014).

L'analyse des données de la composition corporelle de nos deux études, rassemblant 76 jeunes hommes, ne démontre aucune corrélation entre le pourcentage de masse grasse initial et le gain de masse maigre post-entraînement ($r = -0,07$; $p = 0,5$). En revanche, nous distinguons une corrélation négative entre la masse maigre initiale et le gain de masse maigre ($r = -0,22$; $p = 0,05$). D'après ces résultats, il semblerait que la capacité à augmenter sa masse musculaire dépende, bien que très partiellement, de la masse maigre initiale (Etude 1 et 2, données non présentées).

Les participants à nos études sont des sportifs amateurs, s'entraînant régulièrement en musculation, mais ayant des spécialités sportives très variées (i.e. football, rugby, judo, boxe, gymnastique, natation, base-ball). La morphologie, le phénotype musculaire et les qualités physiques associées (i.e. force, vitesse, puissance et endurance) des participants sont donc diversifiées. Ils sont sportifs et déjà entraînés en musculation, mais ces différences de spécialité sportive pourraient expliquer l'hétérogénéité des réponses musculaires entre les individus.

Afin de limiter l'effet de la masse maigre initiale et des caractéristiques musculaires intrinsèque (i.e. proportion de fibres rapides, angle de pennation, nombre de fibres) sur les adaptations musculaires, il serait préférable, à l'avenir, de sélectionner des sportifs de masse maigre plus homogène, et ayant la même spécialité sportive.

L'étude de la physiologie et de la biochimie de l'exercice permet d'expliquer les mécanismes moléculaires impliqués dans l'hypertrophie et l'atrophie musculaire, suite à l'exercice physique. Dans ce cadre, Margolis et al. (2017) mettent en évidence l'existence d'un lien entre l'augmentation des taux circulant de six microARN musculaires (miRNA, petites ARN non codantes, qui régulent l'expression des gènes après la transcription) et la phosphorylation de kinases Akt et S6K1, impliquées dans la régulation de la voie mTOR, en réponse à un exercice. Des taux circulants augmentés sont corroborés avec une meilleure réponse anabolique à l'exercice. Or, les taux de miRNA - en réponse à un exercice - sont variables entre les individus et évoluent avec l'âge et l'entraînement. Le niveau d'expression

des miRNA impliquées dans la régulation de l'hypertrophie, pourrait donc constituer un marqueur intéressant de réponse à l'exercice. (Margolis et al. 2017, Sapp et al. 2017).

L'hypertrophie musculaire dépend de nombreux facteurs endogènes (sécrétion hormonale, sensibilité de la voie mTOR, proportion de fibres rapides de type II, nombre de fibres musculaires, etc.) et de facteurs environnementaux (disponibilité en acides aminés, exercice physique, statut inflammatoire, consommation d'alcool, disponibilité énergétique, etc.), qui régulent les mécanismes moléculaires impliqués dans l'hypertrophie musculaire. Des études supplémentaires, analysant les facteurs impliqués dans l'hypertrophie musculaire (facteurs génétiques, moléculaires, systémiques, morphologiques et environnementaux) et leur potentielle variabilité en réponse à un entraînement, permettraient de préciser cette notion de « bons » et « mauvais » répondeurs.

PERSPECTIVES

Les travaux effectués au cours de cette thèse nous ont permis de mieux comprendre le rôle joué par l'apport protéique sur les adaptations musculaires à un entraînement en musculation. Outre les résultats de nos études, ces travaux ont permis de mettre à jour de nouvelles pistes d'investigation qui permettront de mieux optimiser l'apport protéique dans le cadre d'un entraînement en musculation.

Quelle quantité optimale ?

1. Une étude récente, parue en 2016, a remis en question la quantité de protéines de lactosérum optimale à ingérer, à l'issue d'un exercice de musculation sollicitant une masse musculaire importante (membres inférieurs et supérieurs). Ils ont démontré que l'apport de 40g de lactosérum majore les synthèses protéiques comparé à un apport de 20g (Macnaughton et al. 2016).

Un objectif des études à venir serait de confirmer, ou d'infirmer les quantités de protéines de lactosérum nécessaires (10, 20, 30 ou 40g) chez des jeunes sportifs entraînés pour i) atteindre le seuil maximal des synthèses protéiques à l'issue d'un exercice unique, et ii) maximiser les réponses musculaires à un entraînement en musculation.

Les mesures de la protéosynthèse, la disponibilité plasmatique en acides aminés, la masse musculaire et la force, pourraient être effectuées avant et après l'entraînement en musculation de plusieurs semaines. Les objectifs d'une telle étude seraient triples.

- 1) Identifier la quantité optimale de lactosérum (ingérée immédiatement après l'exercice), permettant d'atteindre le seuil maximal des synthèses de protéines, suite à un exercice sollicitant les membres inférieurs et supérieurs.
- 2) Déterminer la quantité optimale d'apport en protéines immédiatement après la séance, sur les réponses musculaires (masse musculaire et force) à un entraînement en musculation.
- 3) Etudier l'effet de l'entraînement sur les modifications éventuelles des synthèses protéiques et de la disponibilité plasmatique en acides aminés après l'exercice ; ainsi que le lien entre les synthèses protéiques, la disponibilité plasmatique en acides aminés et le gain de masse musculaire.

Un protocole alliant des mesures de synthèses protéiques et de disponibilité plasmatique avant et après un entraînement en musculation, le tout associé à l'évaluation des réponses musculaires

à cet entraînement, permettrait **d'élucider clairement la quantité optimale des protéines à ingérer après l'exercice, dans le cadre d'un entraînement.**

Quels moments d'apport ?

2. Dans la continuité de notre 2^{ème} étude, l'hypothèse selon laquelle l'apport de caséine 3h après la fin de l'entraînement favoriserait la récupération musculaire, pourrait être testée. Il pourrait être envisagé un protocole expérimental en cross-over, testant les quatre stratégies nutritionnelles de l'étude 2 (PLACEBO, WHEY, WHEY+CAS-3h, WHEY+CAS-NIGHT). Les participants viendraient quatre journées et nuits au laboratoire, avec une semaine de repos entre les journées de mesures. Ils effectueraient tous le même exercice sollicitant les membres inférieurs et supérieurs, en fin de matinée. Puis, selon une randomisation aléatoire ils ingèreraient, en fonction du groupe attribué,

- *immédiatement après l'exercice (11h)* : 20g de lactosérum ou un placebo non-énergétique,
- *1h après la fin de l'exercice (12h)* : un repas standardisé pour tous,
- *3h après la fin de l'entraînement (15h)* : 30g de caséines ou un placebo,
- *à 20h* : un dîner standardisé pour tous,
- *avant le coucher (23h)* : 30g de caséine ou un placebo.

Afin de tenter d'obtenir un maximum d'informations sur la récupération musculaire, lors d'une supplémentation protéique, au repos et après l'exercice, plusieurs paramètres pourraient être mesurés :

- **Mesure de la disponibilité plasmatique en acides aminés**

Le but serait d'évaluer la disponibilité plasmatique des acides aminés avec ces différentes stratégies nutritionnelles sur les ~20h post-exercice.

- **Analyse des marqueurs enzymatiques (CPK) et biologiques de dommages musculaires (microARN d'origine musculaire, cytokines pro et anti-inflammatoires)**

Moments de mesure : PRE exercice, POST exercice, POST-3h, POST-6h, POST-12h, POST-24h. La cinétique de récupération des marqueurs de l'inflammation et de dommages musculaires pourra ainsi être évaluée.

- **Evaluation subjective de la douleur**

Echelles Visuelles Analogiques de la douleur musculaire (à la palpation et la descente des escaliers).

- **Mesures de performance musculaire**

Avant l'entraînement (état sans fatigue) et le lendemain matin à la même heure.

Evaluation de la force maximale isométrique, anisométrique (1 RM), et de la puissance maximale des membres inférieurs (saut vertical, CMJ).

L'objectif d'une telle investigation serait de déterminer l'effet du moment d'apport en caséine sur les marqueurs de la récupération musculaire lors des 24h après un exercice de musculation intensif.

3. L'étude du moment d'apport optimal de la caséine n'en est qu'à ses débuts. Dans la continuité de l'étude de Snijders et al. (2015), il serait intéressant de tester l'hypothèse selon laquelle la prise de caséines avant le coucher permettrait de majorer les adaptations musculaires (masse musculaire et force) dans le cadre d'un entraînement réalisé le soir. En effet, lors d'un entraînement réalisé le matin (Etude 2), deux repas permettent un apport de protéines à assimilation lente après la séance. En revanche, lorsque l'entraînement est réalisé le soir, il n'y a qu'un seul repas après celui-ci. Dans ces conditions, une supplémentation en caséine avant le coucher permettrait éventuellement, de maximiser les réponses musculaires à l'entraînement. Afin de tester cette hypothèse, tous les participants s'entraîneraient le soir (entre 18 et 20h) pendant 8 semaines minimum, à raison de 4 séances par semaine. Ils auraient tous 20g de protéines de lactosérum immédiatement après la séance de musculation et un dîner standardisé 1h après la prise de lactosérum. Puis, un groupe consommerait 30g de caséines 30 minutes avant de se coucher (environ 3h après le dîner), tandis que l'autre groupe les consommerait dans la matinée, 3h après le petit déjeuner.

Une telle investigation permettrait d'identifier clairement l'effet du moment d'apport en caséines sur l'hypertrophie et la force musculaire, en réponse à un entraînement en musculation réalisé le soir.

Quels facteurs favorisent les réponses hypertrophiques à un entraînement ?

4. L'objectif serait d'évaluer les réponses musculaires à un entraînement et à l'ingestion de protéines en récupération des séances de musculation, sur un groupe de participants homogène selon leur sexe, âge, niveau d'entraînement, masse maigre initiale, apports protéiques initiaux et leur discipline sportive.

Les adaptations musculaires à l'entraînement et à la stratégie nutritionnelle seraient évaluées, ainsi qu'un certain nombre de mesures permettant de mettre en évidence les facteurs potentiels qui peuvent discriminer les « bons » des « mauvais » réponders. **L'une des pistes actuelles afin d'évaluer le niveau de réponse à un exercice, ou à un programme d'entraînement en musculation, serait d'utiliser des marqueurs indirects, comme les microARN** (Margolis et al. 2017, Sapp et al. 2017).

Elargir notre champ de Recherche vers le domaine de la santé

5. Enfin, notre champ d'étude s'est restreint à une population très spécifique et précise (les sportifs). Il pourrait se transférer vers une population plus large, à savoir auprès de personnes présentant une amyotrophie. L'amyotrophie, la sarcopénie, affectent de très nombreux patients porteurs de pathologies chroniques (cancers, insuffisance cardiaque, insuffisance respiratoire, maladies métaboliques, etc.). Dans l'optique d'une réhabilitation fonctionnelle par la mise à l'exercice, la supplémentation en protéines pourrait permettre de favoriser le gain de masse musculaire et de force, indispensables à l'autonomie et à la santé des individus. **Dans ce contexte, l'optimisation de l'apport protéique et nutritionnel est fondamentale, et nos différents domaines d'investigations (type de protéines, quantité optimale et moments d'apports) pourraient y être transférés.**

CONCLUSIONS

Ce travail de thèse avait pour objectif d'évaluer l'effet de différentes stratégies de supplémentation en protéines de lait (lentes et/ou rapides) sur les réponses musculaires à un entraînement en musculation, chez des jeunes sportifs amateurs régulièrement entraînés en musculation. Nous avons pour ambition de réaliser deux études permettant i) de déterminer, s'il existe, le meilleur rapport entre protéines rapides et protéines lentes contenues dans une boisson de récupération à prendre immédiatement à la fin de l'exercice de musculation ; ii) de vérifier que la supplémentation en caséine à distance de l'entraînement permette de maximiser les adaptations musculaires à un entraînement ; et, iii) de déterminer le moment d'apport optimal en caséine, à savoir 3h après la séance ou avant le coucher, dans le cadre d'un entraînement réalisé le matin.

Nos résultats confirment que la supplémentation de 20g de protéines de lactosérum après chaque séance, permet de maximiser les réponses musculaires (force maximale et masse maigre) à un entraînement en musculation. Apporter des protéines de lactosérum (protéines rapides) en récupération, induit une élévation de la concentration plasmatique en acides aminés branchés et en leucine supérieure à l'ingestion de protéines de lait. Cependant, cette plus forte disponibilité plasmatique en acides aminés ne se traduit pas par un gain de masse musculaire ni de force accentué à l'issue de 9 semaines d'entraînement en musculation. Les résultats de la seconde étude illustrent que la supplémentation de 30g de caséine à distance de la fin de l'entraînement induit une élévation significative des apports protéiques sur la journée. Ceci, ne se traduit pas par un gain de masse musculaire supérieur pour les groupes supplémentés en caséine, comparés au groupe ingérant uniquement 20g de protéines de lactosérum immédiatement après l'exercice. En revanche, nos résultats permettent de suggérer qu'en plus de la supplémentation en protéines rapides après l'exercice, un apport de protéines lentes 3h après la fin de l'exercice, peut majorer les adaptations musculaires traduites par un gain de force anisométrique.

Dans ce contexte d'entraînement, l'optimisation de l'apport protéique - passant par l'utilisation de suppléments intégrés à des apports protéiques quotidiens déjà maximaux - reste à éclaircir.

APPLICATIONS PRATIQUES

Nous espérons modestement que la recherche menée au cours de cette thèse influence les pratiques de supplémentation en protéines. Les suppléments protéiques sont communément utilisés chez les sportifs amateurs comme professionnels. Leur usage est souvent excessif. Nos études confirment des notions, pas suffisamment prises en considération en pratique de terrain. En effet, il est inutile de consommer des protéines en excès puisqu'il n'existe aucun lien entre les apports protéiques quotidiens et le gain de masse musculaire. Dans ce cadre, l'optimisation de l'apport protéique reste primordiale. Cependant, un autre champ d'études se dégage, à savoir l'évaluation du niveau de réponse individuelle à un exercice, ou à un programme d'entraînement.

D'après nos résultats, la prise de 20g de protéines à assimilation rapide, après chaque séance, permet de majorer les adaptations musculaires à l'entraînement. La boisson protéique post-exercice peut être composée de protéines rapides (lactosérum) avec ou sans protéines lentes (80% ou 50% de caséine). De plus, afin de maximiser le gain de force anisométrique, il pourra être recommandé de consommer 30g de caséine 3h après la fin de la séance de musculation.

Ces apports supplémentaires doivent s'inscrire dans la consommation protéique quotidienne, sans dépasser les recommandations en période d'hypertrophie musculaire (1,8 et 2g/kg/J). Durant les périodes d'entraînement sans développement hypertrophique, il conviendra de réduire les apports protéiques à 1,3-1,5g/kg/j, et en cas de non-activité physique de maintenir des apports compris entre 0,8-1g/kg/J. L'augmentation de l'apport protéique permet de majorer les réponses hypertrophiques des muscles. La supplémentation en protéines n'est donc pas systématique. Elle est à périodiser selon la charge d'entraînement et les objectifs.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2009. 41(3): 687-708.
- Abe T., Fukashiro S., Harada Y. and Kawamoto K. Relationship between sprint performance and muscle fascicle length in female sprinters. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci.* 2001. 20(2): 141-147.
- Adegoke O. A., Abdullahi A. and Tavajohi-Fini P. mTORC1 and the regulation of skeletal muscle anabolism and mass. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012. 37(3): 395-406.
- Aguir A. F., Grala A. P., da Silva R. A., Soares-Caldeira L. F., Pacagnelli F. L., Ribeiro A. S., da Silva D. K., de Andrade W. B. and Balvedi M. C. W. Free leucine supplementation during an 8-week resistance training program does not increase muscle mass and strength in untrained young adult subjects. *Amino Acids.* 2017. 49(7): 1255-1262.
- Aguilar V., Alliouachene S., Sotiropoulos A., Sobering A., Athea Y., Djouadi F., Miraux S., Thiaudiere E., Foretz M., Viollet B., Diolez P., Bastin J., Benit P., Rustin P., Carling D., Sandri M., Ventura-Clapier R. and Pende M. S6 kinase deletion suppresses muscle growth adaptations to nutrient availability by activating AMP kinase. *Cell Metab.* 2007. 5(6): 476-487.
- Ahtiainen J. P., Pakarinen A., Alen M., Kraemer W. J. and Hakkinen K. Muscle hypertrophy, hormonal adaptations and strength development during strength training in strength-trained and untrained men. *Eur J Appl Physiol.* 2003. 89(6): 555-563.
- Allen D. G., Lamb G. D. and Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev.* 2008. 88(1): 287-332.
- Allen D. L., Hittel D. S. and McPherron A. C. Expression and function of myostatin in obesity, diabetes, and exercise adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* 2011. 43(10): 1828-1835.
- Andrade F. H., Reid M. B., Allen D. G. and Westerblad H. Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from the mouse. *J Physiol.* 1998. 509 (Pt 2): 565-575.
- Anthony J. C., Anthony T. G., Kimball S. R. and Jefferson L. S. Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. *J Nutr.* 2001. 131(3): 856s-860s.
- Antonio J., Ellerbroek A., Silver T., Orris S., Scheiner M., Gonzalez A. and Peacock C. A. A high protein diet (3.4 g/kg/d) combined with a heavy resistance training program improves body composition in healthy trained men and women--a follow-up investigation. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015. 12: 39.
- Antonio J., Ellerbroek A., Peacock C., Silver T. Casein Protein Supplementation in Trained Men and Women: Morning versus Evening. *Int J Exerc Sci.* 2017. 10(3):479-486.
- Aperghis M., Velloso C. P., Hameed M., Brothwood T., Bradley L., Bouloux P. M., Harridge S. D. and Goldspink G. Serum IGF-I levels and IGF-I gene splicing in muscle of healthy young males receiving rhGH. *Growth Horm IGF Res.* 2009. 19(1): 61-67.
- Aragon A. A. and Schoenfeld B. J. Nutrient timing revisited: is there a post-exercise anabolic window? *J Int Soc Sports Nutr.* 2013. 10(1): 5.
- Areta J. L., Burke L. M., Ross M. L., Camera D. M., West D. W., Broad E. M., Jeacocke N. A., Moore D. R., Stellingwerff T., Phillips S. M., Hawley J. A. and Coffey V. G. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis. *J Physiol.* 2013. 591(9): 2319-2331.
- Atherton P. J., Etheridge T., Watt P. W., Wilkinson D., Selby A., Rankin D., Smith K. and Rennie M. J. Muscle full effect after oral protein: time-dependent concordance and discordance between human muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *Am J Clin Nutr.* 2010. 92(5): 1080-1088.
- Atherton P. J. and Smith K. Muscle protein synthesis in response to nutrition and exercise. *J Physiol.* 2012. 590(5): 1049-1057.
- Atherton P. J., Smith K., Etheridge T., Rankin D. and Rennie M. J. Distinct anabolic signalling responses to amino acids in C2C12 skeletal muscle cells. *Amino Acids.* 2010. 38(5): 1533-1539.
- Babault N., Desbrosses K., Fabre M. S., Michaut A. and Pousson M. Neuromuscular fatigue development during maximal concentric and isometric knee extensions. *J Appl Physiol* (1985). 2006. 100(3): 780-785.

Balogopal P., Schimke J. C., Ades P., Adey D. and Nair K. S. Age effect on transcript levels and synthesis rate of muscle MHC and response to resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001. 280(2): E203-208.

Barany M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J Gen Physiol.* 1967. 50(6): Suppl:197-218.

Beelen M., Koopman R., Gijzen A. P., Vandereydt H., Kies A. K., Kuipers H., Saris W. H. and van Loon L. J. Protein coingestion stimulates muscle protein synthesis during resistance-type exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008. 295(1): E70-77.

Behm D. G. and Sale D. G. Velocity specificity of resistance training. *Sports Med.* 1993. 15(6): 374-388.

Bellinger A. M., Mongillo M. and Marks A. R. Stressed out: the skeletal muscle ryanodine receptor as a target of stress. *J Clin Invest.* 2008. 118(2): 445-453.

Bennet W. M., Connacher A. A., Scrimgeour C. M., Jung R. T. and Rennie M. J. Euglycemic hyperinsulinemia augments amino acid uptake by human leg tissues during hyperaminoacidemia. *Am J Physiol.* 1990. 259(2 Pt 1): E185-194.

Bhasin S., Storer T. W., Berman N., Yarasheski K. E., Clevenger B., Phillips J., Lee W. P., Bunnell T. J. and Casaburi R. Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997. 82(2): 407-413.

Bhasin S., Woodhouse L. and Storer T. W. Proof of the effect of testosterone on skeletal muscle. *J Endocrinol.* 2001. 170(1): 27-38.

Bigard A. X., Lienhard F., Merino D., Serrurier B. and Guezennec C. Y. Effects of surface electrostimulation on the structure and metabolic properties in monkey skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 1993. 25(3): 355-362.

Bigland-Ritchie B. and Woods J. J. Changes in muscle contractile properties and neural control during human muscular fatigue. *Muscle Nerve.* 1984. 7(9): 691-699.

Biolo G., Declan Fleming R. Y. and Wolfe R. R. Physiologic hyperinsulinemia stimulates protein synthesis and enhances transport of selected amino acids in human skeletal muscle. *J Clin Invest.* 1995. 95(2): 811-819.

Biolo G., Maggi S. P., Williams B. D., Tipton K. D. and Wolfe R. R. Increased rates of muscle protein turnover and amino acid transport after resistance exercise in humans. *Am J Physiol.* 1995. 268(3 Pt 1): E514-520.

Biolo G., Tipton K. D., Klein S. and Wolfe R. R. An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. *Am J Physiol.* 1997. 273(1 Pt 1): E122-129.

Biolo G., Williams B. D., Fleming R. Y. and Wolfe R. R. Insulin action on muscle protein kinetics and amino acid transport during recovery after resistance exercise. *Diabetes.* 1999. 48(5): 949-957.

Bird S. P., Tarpenning K. M. and Marino F. E. Independent and combined effects of liquid carbohydrate/essential amino acid ingestion on hormonal and muscular adaptations following resistance training in untrained men. *Eur J Appl Physiol.* 2006. 97(2): 225-238.

Bird S. P., Tarpenning K. M. and Marino F. E. Liquid carbohydrate/essential amino acid ingestion during a short-term bout of resistance exercise suppresses myofibrillar protein degradation. *Metabolism.* 2006. 55(5): 570-577.

Blanchard E. M. and Solaro R. J. Inhibition of the activation and troponin calcium binding of dog cardiac myofibrils by acidic pH. *Circ Res.* 1984. 55(3): 382-391.

Bodine S. C., Stitt T. N., Gonzalez M., Kline W. O., Stover G. L., Bauerlein R., Zlotchenko E., Scrimgeour A., Lawrence J. C., Glass D. J. and Yancopoulos G. D. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol.* 2001. 3(11): 1014-1019.

Boirie Y., Dangin M., Gachon P., Vasson M. P., Maubois J. L. and Beaufriere B. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997. 94(26): 14930-14935.

Bond P. Regulation of mTORC1 by growth factors, energy status, amino acids and mechanical stimuli at a glance. *J Int Soc Sports Nutr.* 2016. 13: 8.

Borsheim E., Aarsland A. and Wolfe R. R. Effect of an amino acid, protein, and carbohydrate mixture on net muscle protein balance after resistance exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2004. 14(3): 255-271.

Bosse J. D. and Dixon B. M. Dietary protein in weight management: a review proposing protein

spread and change theories. *Nutr Metab (Lond)*. 2012. 9(1): 81.

Bottinelli R., Canepari M., Pellegrino M. A. and Reggiani C. Force-velocity properties of human skeletal muscle fibres: myosin heavy chain isoform and temperature dependence. *J Physiol*. 1996. 495 (Pt 2): 573-586.

Brahm H., Piehl-Aulin K., Saltin B. and Ljunghall S. Net fluxes over working thigh of hormones, growth factors and biomarkers of bone metabolism during short lasting dynamic exercise. *Calcif Tissue Int*. 1997. 60(2): 175-180.

Breuille D., Rose F., Arnal M., Melin C. and Obled C. Sepsis modifies the contribution of different organs to whole-body protein synthesis in rats. *Clin Sci (Lond)*. 1994. 86(6): 663-669.

Brooke M. H. and Kaiser K. K. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol*. 1970. 23(4): 369-379.

Burd N. A., Andrews R. J., West D. W., Little J. P., Cochran A. J., Hector A. J., Cashaback J. G., Gibala M. J., Potvin J. R., Baker S. K. and Phillips S. M. Muscle time under tension during resistance exercise stimulates differential muscle protein sub-fractional synthetic responses in men. *J Physiol*. 2012. 590(2): 351-362.

Burd N. A., Holwerda A. M., Selby K. C., West D. W., Staples A. W., Cain N. E., Cashaback J. G., Potvin J. R., Baker S. K. and Phillips S. M. Resistance exercise volume affects myofibrillar protein synthesis and anabolic signalling molecule phosphorylation in young men. *J Physiol*. 2010. 588(Pt 16): 3119-3130.

Burd N. A., Tang J. E., Moore D. R. and Phillips S. M. Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. *J Appl Physiol (1985)*. 2009. 106(5): 1692-1701.

Burke L. M. Practical Issues in Evidence-Based Use of Performance Supplements: Supplement Interactions, Repeated Use and Individual Responses. *Sports Med*. 2017. 47(Suppl 1): 79-100.

Burke L. M., Hawley J. A., Ross M. L., Moore D. R., Phillips S. M., Slater G. R., Stellingwerff T., Tipton K. D., Garnham A. P. and Coffey V. G. Preexercise aminoacidemia and muscle protein synthesis after resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2012. 44(10): 1968-1977.

Burke L. M., Winter J. A., Cameron-Smith D., Enslin M., Farnfield M. and Decombaz J. Effect of

intake of different dietary protein sources on plasma amino acid profiles at rest and after exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2012. 22(6): 452-462.

Caiozzo V. J., Perrine J. J. and Edgerton V. R. Training-induced alterations of the in vivo force-velocity relationship of human muscle. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1981. 51(3): 750-754.

Candow D. G., Burke N. C., Smith-Palmer T. and Burke D. G. Effect of whey and soy protein supplementation combined with resistance training in young adults. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2006. 16(3): 233-244.

Cermak N. M., Res P. T., de Groot L. C., Saris W. H. and van Loon L. J. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2012. 96(6): 1454-1464.

Chaillou T., Koulmann N., Simler N., Meunier A., Serrurier B., Chapot R., Peinnequin A., Beaudry M. and Bigard X. Hypoxia transiently affects skeletal muscle hypertrophy in a functional overload model. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012. 302(5): R643-654.

Chantranupong L., Wolfson R. L., Orozco J. M., Saxton R. A., Scaria S. M., Bar-Peled L., Spooner E., Isasa M., Gygi S. P. and Sabatini D. M. The Sestrins interact with GATOR2 to negatively regulate the amino-acid-sensing pathway upstream of mTORC1. *Cell Rep*. 2014. 9(1): 1-8.

Churchward-Venne T. A., Breen L., Di Donato D. M., Hector A. J., Mitchell C. J., Moore D. R., Stellingwerff T., Breuille D., Offord E. A., Baker S. K. and Phillips S. M. Leucine supplementation of a low-protein mixed macronutrient beverage enhances myofibrillar protein synthesis in young men: a double-blind, randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2014. 99(2): 276-286.

Churchward-Venne T. A., Burd N. A., Mitchell C. J., West D. W., Philp A., Marcotte G. R., Baker S. K., Baar K. and Phillips S. M. Supplementation of a suboptimal protein dose with leucine or essential amino acids: effects on myofibrillar protein synthesis at rest and following resistance exercise in men. *J Physiol*. 2012. 590(11): 2751-2765.

Churchward-Venne T. A., Burd N. A. and Phillips S. M. Nutritional regulation of muscle protein synthesis with resistance exercise: strategies to enhance anabolism. *Nutr Metab (Lond)*. 2012. 9(1): 40.

Claassen H., Gerber C., Hoppeler H., Luthi J. M. and Vock P. Muscle filament spacing and short-term

- heavy-resistance exercise in humans. *J Physiol.* 1989. 409: 491-495.
- Cormie P., McGuigan M. R. and Newton R. U. Developing maximal neuromuscular power: Part 1--biological basis of maximal power production. *Sports Med.* 2011. 41(1): 17-38.
- Cormie P., McGuigan M. R. and Newton R. U. Developing maximal neuromuscular power: part 2 - training considerations for improving maximal power production. *Sports Med.* 2011. 41(2): 125-146.
- Creer A., Gallagher P., Slivka D., Jemiolo B., Fink W. and Trappe S. Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2005. 99(3): 950-956.
- Cribb P. J. and Hayes A. Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc.* 2006. 38(11): 1918-1925.
- Cribb P. J., Williams A. D., Carey M. F. and Hayes A. The effect of whey isolate and resistance training on strength, body composition, and plasma glutamine. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006. 16(5): 494-509.
- Cronin J. B. and Hansen K. T. Strength and power predictors of sports speed. *J Strength Cond Res.* 2005. 19(2): 349-357.
- Dangin M., Boirie Y., Guillet C. and Beaufre B. Influence of the protein digestion rate on protein turnover in young and elderly subjects. *J Nutr.* 2002. 132(10): 3228s-3233s.
- Deldicque L., Theisen D. and Francaux M. Regulation of mTOR by amino acids and resistance exercise in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 2005. 94(1-2): 1-10.
- Delorme T. L. and Watkins A. L. Technics of progressive resistance exercise. *Arch Phys Med Rehabil.* 1948. 29(5): 263-273.
- Deutz N. E. and Wolfe R. R. Is there a maximal anabolic response to protein intake with a meal? *Clin Nutr.* 2013. 32(2): 309-313.
- Devries M. C. and Phillips S. M. Supplemental protein in support of muscle mass and health: advantage whey. *J Food Sci.* 2015. 80 Suppl 1: A8-a15.
- Dickinson J. M., Fry C. S., Drummond M. J., Gundermann D. M., Walker D. K., Glynn E. L., Timmerman K. L., Dhanani S., Volpi E. and Rasmussen B. B. Mammalian target of rapamycin complex 1 activation is required for the stimulation of human skeletal muscle protein synthesis by essential amino acids. *J Nutr.* 2011. 141(5): 856-862.
- Dodd K. M. and Tee A. R. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012. 302(11): E1329-1342.
- Drummond M. J., Dreyer H. C., Fry C. S., Glynn E. L. and Rasmussen B. B. Nutritional and contractile regulation of human skeletal muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *J Appl Physiol* (1985). 2009. 106(4): 1374-1384.
- Edman K. A. The relation between sarcomere length and active tension in isolated semitendinosus fibres of the frog. *J Physiol.* 1966. 183(2): 407-417.
- Egan B. and Zierath J. R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab.* 2013. 17(2): 162-184.
- Elliot T. A., Cree M. G., Sanford A. P., Wolfe R. R. and Tipton K. D. Milk ingestion stimulates net muscle protein synthesis following resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2006. 38(4): 667-674.
- Enoka R. M. Morphological features and activation patterns of motor units. *J Clin Neurophysiol.* 1995. 12(6): 538-559.
- Enoka R. M. and Duchateau J. Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. *J Physiol.* 2008. 586(1): 11-23.
- Enoka R. M. and Fuglevand A. J. Motor unit physiology: some unresolved issues. *Muscle Nerve.* 2001. 24(1): 4-17.
- Enoka R. M. and Stuart D. G. Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol* (1985). 1992. 72(5): 1631-1648.
- Fabre M., Hausswirth C., Tiollier E., Molle O., Louis J., Durguerian A., Neuveux N. and Bigard X. Effects of Post-Exercise Protein Intake on Muscle Mass and Strength During Resistance Training: is There an Optimal Ratio Between Fast and Slow Proteins? *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2017. 1-23.
- Faulkner J. A., Claflin D. R., McCully K. K. and Jones D. A. Contractile properties of bundles of fiber segments from skeletal muscles. *Am J Physiol.* 1982. 243(1): C66-73.
- Febbraio M. A. and Dancy J. Skeletal muscle energy metabolism during prolonged, fatiguing

- exercise. *J Appl Physiol* (1985). 1999. 87(6): 2341-2347.
- Figueiredo V. C., Roberts L. A., Markworth J. F., Barnett M. P., Coombes J. S., Raastad T., Peake J. M. and Cameron-Smith D. Impact of resistance exercise on ribosome biogenesis is acutely regulated by post-exercise recovery strategies. *Physiol Rep*. 2016. 4(2).
- Fingar D. C., Salama S., Tsou C., Harlow E. and Blenis J. Mammalian cell size is controlled by mTOR and its downstream targets S6K1 and 4EBP1/eIF4E. *Genes Dev*. 2002. 16(12): 1472-1487.
- Fitts R. H., McDonald K. S. and Schluter J. M. The determinants of skeletal muscle force and power: their adaptability with changes in activity pattern. *J Biomech*. 1991. 24 Suppl 1: 111-122.
- Franchi M. V., Atherton P. J., Reeves N. D., Fluck M., Williams J., Mitchell W. K., Selby A., Beltran Valls R. M. and Narici M. V. Architectural, functional and molecular responses to concentric and eccentric loading in human skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf)*. 2014. 210(3): 642-654.
- Franchi M. V., Reeves N. D. and Narici M. V. Skeletal Muscle Remodeling in Response to Eccentric vs. Concentric Loading: Morphological, Molecular, and Metabolic Adaptations. *Front Physiol*. 2017. 8: 447.
- Franchi M. V., Wilkinson D. J., Quinlan J. I., Mitchell W. K., Lund J. N., Williams J. P., Reeves N. D., Smith K., Atherton P. J. and Narici M. V. Early structural remodeling and deuterium oxide-derived protein metabolic responses to eccentric and concentric loading in human skeletal muscle. *Physiol Rep*. 2015. 3(11).
- Fruhbeck G. Protein metabolism. Slow and fast dietary proteins. *Nature*. 1998. 391(6670): 843, 845.
- Fujita S., Abe T., Drummond M. J., Cadenas J. G., Dreyer H. C., Sato Y., Volpi E. and Rasmussen B. B. Blood flow restriction during low-intensity resistance exercise increases S6K1 phosphorylation and muscle protein synthesis. *J Appl Physiol* (1985). 2007. 103(3): 903-910.
- Fukunaga T., Miyatani M., Tachi M., Kouzaki M., Kawakami Y. and Kanehisa H. Muscle volume is a major determinant of joint torque in humans. *Acta Physiol Scand*. 2001. 172(4): 249-255.
- Gabriel D. A., Kamen G. and Frost G. Neural adaptations to resistive exercise: mechanisms and recommendations for training practices. *Sports Med*. 2006. 36(2): 133-149.
- Gans C. Fiber architecture and muscle function. *Exerc Sport Sci Rev*. 1982. 10: 160-207.
- Glass D. J. Molecular mechanisms modulating muscle mass. *Trends Mol Med*. 2003. 9(8): 344-350.
- Glynn E. L., Fry C. S., Drummond M. J., Dreyer H. C., Dhanani S., Volpi E. and Rasmussen B. B. Muscle protein breakdown has a minor role in the protein anabolic response to essential amino acid and carbohydrate intake following resistance exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010. 299(2): R533-540.
- Goodman C. A., Mayhew D. L. and Hornberger T. A. Recent progress toward understanding the molecular mechanisms that regulate skeletal muscle mass. *Cell Signal*. 2011. 23(12): 1896-1906.
- Gordon B. S., Kelleher A. R. and Kimball S. R. Regulation of muscle protein synthesis and the effects of catabolic states. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013. 45(10): 2147-2157.
- Gorissen S. H., Burd N. A., Hamer H. M., Gijsen A. P., Groen B. B. and van Loon L. J. Carbohydrate coingestion delays dietary protein digestion and absorption but does not modulate postprandial muscle protein accretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014. 99(6): 2250-2258.
- Greer E. L. and Brunet A. FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression. *Oncogene*. 2005. 24(50): 7410-7425.
- Groen B. B., Res P. T., Pennings B., Hertle E., Senden J. M., Saris W. H. and van Loon L. J. Intra-gastric protein administration stimulates overnight muscle protein synthesis in elderly men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012. 302(1): E52-60.
- Hamarsland H., Paulsen G., Cotter M., Borsheim E. and Raastad T. Native whey induces higher and faster leucinemia than other whey protein supplements and milk: a randomized controlled trial. *BMC Nutrition*. 2017. 0.1186/s40795-017-0131-9.
- Harridge S. D. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Exp Physiol*. 2007. 92(5): 783-797.
- Hartman J. W., Tang J. E., Wilkinson S. B., Tarnopolsky M. A., Lawrence R. L., Fullerton A. V. and Phillips S. M. Consumption of fat-free fluid milk

after resistance exercise promotes greater lean mass accretion than does consumption of soy or carbohydrate in young, novice, male weightlifters. *Am J Clin Nutr.* 2007. 86(2): 373-381.

Hather B. M., Mason C. E. and Dudley G. A. Histochemical demonstration of skeletal muscle fibre types and capillaries on the same transverse section. *Clin Physiol.* 1991. 11(2): 127-134.

Hather B. M., Tesch P. A., Buchanan P. and Dudley G. A. Influence of eccentric actions on skeletal muscle adaptations to resistance training. *Acta Physiol Scand.* 1991. 143(2): 177-185.

Hauswirth C., Bigard A. X., Lepers R., Berthelot M. and Guezennec C. Y. Sodium citrate ingestion and muscle performance in acute hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1995. 71(4): 362-368.

Heckman C. J. and Enoka R. M. Motor unit. *Compr Physiol.* 2012. 2(4): 2629-2682.

Hill A. V. The Heat of Shortening and the Dynamic Constants of Muscle. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* 1938. 126(843): 136-195.

Hillier T. A., Fryburg D. A., Jahn L. A. and Barrett E. J. Extreme hyperinsulinemia unmasks insulin's effect to stimulate protein synthesis in the human forearm. *Am J Physiol.* 1998. 274(6 Pt 1): E1067-1074.

Hoffman J. R., Ratamess N. A., Tranchina C. P., Rashti S. L., Kang J. and Faigenbaum A. D. Effect of protein-supplement timing on strength, power, and body-composition changes in resistance-trained men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2009. 19(2): 172-185.

Hubal M. J., Gordish-Dressman H., Thompson P. D., Price T. B., Hoffman E. P., Angelopoulos T. J., Gordon P. M., Moyna N. M., Pescatello L. S., Visich P. S., Zoeller R. F., Seip R. L. and Clarkson P. M. Variability in muscle size and strength gain after unilateral resistance training. *Med Sci Sports Exerc.* 2005. 37(6): 964-972.

Huijing P. A. Architecture of the human gastrocnemius muscle and some functional consequences. *Acta Anat (Basel).* 1985. 123(2): 101-107.

Hulmi J. J., Kovanen V., Selanne H., Kraemer W. J., Hakkinen K. and Mero A. A. Acute and long-term effects of resistance exercise with or without protein ingestion on muscle hypertrophy and gene expression. *Amino Acids.* 2009. 37(2): 297-308.

Hulmi J. J., Laakso M., Mero A. A., Hakkinen K., Ahtiainen J. P. and Peltonen H. The effects of whey protein with or without carbohydrates on resistance training adaptations. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015. 12: 48.

Iannoli P., Miller J. H., Wang H. T., Bode B., Souba W. W., Avissar N. E. and Sax H. C. Characterization of L-leucine transport system in brush border membranes from human and rabbit small intestine. *Metabolism.* 1999. 48(11): 1432-1436.

Inoki K., Li Y., Zhu T., Wu J. and Guan K. L. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol.* 2002. 4(9): 648-657.

Jacobs B. L., Goodman C. A. and Hornberger T. A. The mechanical activation of mTOR signaling: an emerging role for late endosome/lysosomal targeting. *J Muscle Res Cell Motil.* 2014. 35(1): 11-21.

Jager R., Kerksick C. M., Campbell B. I., Cribb P. J., Wells S. D., Skwiat T. M., Purpura M., Ziegenfuss T. N., Ferrando A. A., Arent S. M., Smith-Ryan A. E., Stout J. R., Arciero P. J., Ormsbee M. J., Taylor L. W., Wilborn C. D., Kalman D. S., Kreider R. B., Willoughby D. S., Hoffman J. R., Krzykowski J. L. and Antonio J. International Society of Sports Nutrition Position Stand: protein and exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* 2017. 14: 20.

Jones R. L., Stellingwerff T., Artioli G. G., Saunders B., Cooper S. and Sale C. Dose-Response of Sodium Bicarbonate Ingestion Highlights Individuality in Time Course of Blood Analyte Responses. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2016. 26(5): 445-453.

Joy J. M., Lowery R. P., Wilson J. M., Purpura M., De Souza E. O., Wilson S. M., Kalman D. S., Dudeck J. E. and Jager R. The effects of 8 weeks of whey or rice protein supplementation on body composition and exercise performance. *Nutr J.* 2013. 12: 86.

Jung C. H., Ro S. H., Cao J., Otto N. M. and Kim D. H. mTOR regulation of autophagy. *FEBS Lett.* 2010. 584(7): 1287-1295.

Katsanos C. S., Aarsland A., Cree M. G. and Wolfe R. R. Muscle protein synthesis and balance responsiveness to essential amino acids ingestion in the presence of elevated plasma free fatty acid concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009. 94(8): 2984-2990.

Katznelson L., Finkelstein J. S., Schoenfeld D. A., Rosenthal D. I., Anderson E. J. and Klibanski A. Increase in bone density and lean body mass during

testosterone administration in men with acquired hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996. 81(12): 4358-4365.

Kawakami Y., Abe T., Kanehisa H. and Fukunaga T. Human skeletal muscle size and architecture: variability and interdependence. *Am J Hum Biol.* 2006. 18(6): 845-848.

Kelley G. Mechanical overload and skeletal muscle fiber hyperplasia: a meta-analysis. *J Appl Physiol* (1985). 1996. 81(4): 1584-1588.

Kim H., Barton E., Muja N., Yakar S., Pennisi P. and Leroith D. Intact insulin and insulin-like growth factor-I receptor signaling is required for growth hormone effects on skeletal muscle growth and function in vivo. *Endocrinology.* 2005. 146(4): 1772-1779.

Kim J. S., Cross J. M. and Bamman M. M. Impact of resistance loading on myostatin expression and cell cycle regulation in young and older men and women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005. 288(6): E1110-1119.

Kim P. L., Staron R. S. and Phillips S. M. Fasted-state skeletal muscle protein synthesis after resistance exercise is altered with training. *J Physiol.* 2005. 568(Pt 1): 283-290.

Kimball S. R. and Jefferson L. S. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. *J Nutr.* 2006. 136(1 Suppl): 227s-231s.

Knuttgen H. G. and Komi P. V. Basic definitions for exercise. 1992. Oxford, Blackwell Scientific Publications

Kohn T. A., Burroughs R., Hartman M. J. and Noakes T. D. Fiber type and metabolic characteristics of lion (*Panthera leo*), caracal (*Caracal caracal*) and human skeletal muscle. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2011. 159(2): 125-133.

Komi P. V. [Factors affecting muscular strength and principles of training]. *Duodecim.* 1974. 90(7): 505-516.

Koopman R., Beelen M., Stellingwerff T., Pennings B., Saris W. H., Kies A. K., Kuipers H. and van Loon L. J. Coingestion of carbohydrate with protein does not further augment postexercise muscle protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007. 293(3): E833-842.

Koopman R., Walrand S., Beelen M., Gijzen A. P., Kies A. K., Boirie Y., Saris W. H. and van Loon L. J. Dietary protein digestion and absorption rates and the subsequent postprandial muscle protein synthetic response do not differ between young and elderly men. *J Nutr.* 2009. 139(9): 1707-1713.

Kraemer W. J. and Ratamess N. A. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Med Sci Sports Exerc.* 2004. 36(4): 674-688.

Kraemer W. J. and Ratamess N. A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Med.* 2005. 35(4): 339-361.

Krawiec B. J., Nystrom G. J., Frost R. A., Jefferson L. S. and Lang C. H. AMP-activated protein kinase agonists increase mRNA content of the muscle-specific ubiquitin ligases MAFbx and MuRF1 in C2C12 cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007. 292(6): E1555-1567.

Kumagai K., Abe T., Brechue W. F., Ryushi T., Takano S. and Mizuno M. Sprint performance is related to muscle fascicle length in male 100-m sprinters. *J Appl Physiol* (1985). 2000. 88(3): 811-816.

Kumar V., Atherton P., Smith K. and Rennie M. J. Human muscle protein synthesis and breakdown during and after exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2009. 106(6): 2026-2039.

Kvorning T., Andersen M., Brixen K. and Madsen K. Suppression of endogenous testosterone production attenuates the response to strength training: a randomized, placebo-controlled, and blinded intervention study. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006. 291(6): E1325-1332.

Lamas L., Ugrinowitsch C., Rodacki A., Pereira G., Mattos E. C., Kohn A. F. and Tricoli V. Effects of strength and power training on neuromuscular adaptations and jumping movement pattern and performance. *J Strength Cond Res.* 2012. 26(12): 3335-3344.

Lange K. H., Andersen J. L., Beyer N., Isaksson F., Larsson B., Rasmussen M. H., Juul A., Bulow J. and Kjaer M. GH administration changes myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle but does not augment muscle strength or hypertrophy, either alone or combined with resistance exercise training in healthy elderly men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002. 87(2): 513-523.

Lecker S. H., Goldberg A. L. and Mitch W. E. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome

pathway in normal and disease states. *J Am Soc Nephrol*. 2006. 17(7): 1807-1819.

Lemon P. W. Effects of exercise on dietary protein requirements. *Int J Sport Nutr*. 1998. 8(4): 426-447.

Levenhagen D. K., Gresham J. D., Carlson M. G., Maron D. J., Borel M. J. and Flakoll P. J. Postexercise nutrient intake timing in humans is critical to recovery of leg glucose and protein homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001. 280(6): E982-993.

Lexell J., Taylor C. C. and Sjöström M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci*. 1988. 84(2-3): 275-294.

Lieber R. L. and Friden J. Functional and clinical significance of skeletal muscle architecture. *Muscle Nerve*. 2000. 23(11): 1647-1666.

Lindinger M. I. and Sjøgaard G. Potassium regulation during exercise and recovery. *Sports Med*. 1991. 11(6): 382-401.

Liu C. M., Yang Z., Liu C. W., Wang R., Tien P., Dale R. and Sun L. Q. Effect of RNA oligonucleotide targeting Foxo-1 on muscle growth in normal and cancer cachexia mice. *Cancer Gene Ther*. 2007. 14(12): 945-952.

Lushchak V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*. 2014. 224: 164-175.

Ma W. and Quirion R. The ERK/MAPK pathway, as a target for the treatment of neuropathic pain. *Expert Opin Ther Targets*. 2005. 9(4): 699-713.

Macnaughton L. S., Wardle S. L., Witard O. C., McGlory C., Hamilton D. L., Jeromson S., Lawrence C. E., Wallis G. A. and Tipton K. D. The response of muscle protein synthesis following whole-body resistance exercise is greater following 40 g than 20 g of ingested whey protein. *Physiol Rep*. 2016. 4(15).

Mammucari C., Milan G., Romanello V., Masiero E., Rudolf R., Del Piccolo P., Burden S. J., Di Lisi R., Sandri C., Zhao J., Goldberg A. L., Schiaffino S. and Sandri M. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metab*. 2007. 6(6): 458-471.

Marcotte G. R., West D. W. and Baar K. The molecular basis for load-induced skeletal muscle hypertrophy. *Calcif Tissue Int*. 2015. 96(3): 196-210.

Margolis L. M., Lessard S. J., Ezzyat Y., Fielding R. A. and Rivas D. A. Circulating MicroRNA Are Predictive of Aging and Acute Adaptive Response to Resistance Exercise in Men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2017. 72(10): 1319-1326.

Markworth J. F., Maddipati K. R. and Cameron-Smith D. Emerging roles of pro-resolving lipid mediators in immunological and adaptive responses to exercise-induced muscle injury. *Exerc Immunol Rev*. 2016. 22: 110-134.

Mayhew D. L., Kim J. S., Cross J. M., Ferrando A. A. and Bamman M. M. Translational signaling responses preceding resistance training-mediated myofiber hypertrophy in young and old humans. *J Appl Physiol* (1985). 2009. 107(5): 1655-1662.

McCall G. E., Byrnes W. C., Fleck S. J., Dickinson A. and Kraemer W. J. Acute and chronic hormonal responses to resistance training designed to promote muscle hypertrophy. *Can J Appl Physiol*. 1999. 24(1): 96-107.

McCarthy J. J. and Esser K. A. Anabolic and catabolic pathways regulating skeletal muscle mass. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010. 13(3): 230-235.

McGlory C., Galloway S. D., Hamilton D. L., McClintock C., Breen L., Dick J. R., Bell J. G. and Tipton K. D. Temporal changes in human skeletal muscle and blood lipid composition with fish oil supplementation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2014. 90(6): 199-206.

McGlory C. and Phillips S. M. Exercise and the Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015. 135: 153-173.

McGlory C., Wardle S. L., Macnaughton L. S., Witard O. C., Scott F., Dick J., Bell J. G., Phillips S. M., Galloway S. D., Hamilton D. L. and Tipton K. D. Fish oil supplementation suppresses resistance exercise and feeding-induced increases in anabolic signaling without affecting myofibrillar protein synthesis in young men. *Physiol Rep*. 2016. 4(6).

Mitch W. E. and Goldberg A. L. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med*. 1996. 335(25): 1897-1905.

Mitchell C. J., Churchward-Venne T. A., Bellamy L., Parise G., Baker S. K. and Phillips S. M. Muscular and systemic correlates of resistance training-induced muscle hypertrophy. *PLoS One*. 2013. 8(10): e78636.

- Mitchell C. J., Churchward-Venne T. A., Parise G., Bellamy L., Baker S. K., Smith K., Atherton P. J. and Phillips S. M. Acute post-exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training-induced muscle hypertrophy in young men. *PLoS One*. 2014. 9(2): e89431.
- Mitchell C. J., Churchward-Venne T. A., West D. W., Burd N. A., Breen L., Baker S. K. and Phillips S. M. Resistance exercise load does not determine training-mediated hypertrophic gains in young men. *J Appl Physiol* (1985). 2012. 113(1): 71-77.
- Mitchell C. J., McGregor R. A., D'Souza R. F., Thorstensen E. B., Markworth J. F., Fanning A. C., Poppitt S. D. and Cameron-Smith D. Consumption of Milk Protein or Whey Protein Results in a Similar Increase in Muscle Protein Synthesis in Middle Aged Men. *Nutrients*. 2015. 7(10): 8685-8699.
- Miyazaki M. and Esser K. A. Cellular mechanisms regulating protein synthesis and skeletal muscle hypertrophy in animals. *J Appl Physiol* (1985). 2009. 106(4): 1367-1373.
- Moffroid M. T. and Whipple R. H. Specificity of speed of exercise. *Phys Ther*. 1970. 50(12): 1692-1700.
- Moore D. R., Churchward-Venne T. A., Witard O., Breen L., Burd N. A., Tipton K. D. and Phillips S. M. Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2015. 70(1): 57-62.
- Moore D. R., Robinson M. J., Fry J. L., Tang J. E., Glover E. I., Wilkinson S. B., Prior T., Tarnopolsky M. A. and Phillips S. M. Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. *Am J Clin Nutr*. 2009. 89(1): 161-168.
- Moritani T. and deVries H. A. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. *Am J Phys Med*. 1979. 58(3): 115-130.
- Morton R. W., McGlory C. and Phillips S. M. Nutritional interventions to augment resistance training-induced skeletal muscle hypertrophy. *Front Physiol*. 2015. 6: 245.
- Moughan P. J. Dietary protein quality in humans--an overview. *J AOAC Int*. 2005. 88(3): 874-876.
- Musaro A., McCullagh K., Paul A., Houghton L., Dobrowolny G., Molinaro M., Barton E. R., Sweeney H. L. and Rosenthal N. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Genet*. 2001. 27(2): 195-200.
- Naclerio F. and Larumbe-Zabala E. Effects of Whey Protein Alone or as Part of a Multi-ingredient Formulation on Strength, Fat-Free Mass, or Lean Body Mass in Resistance-Trained Individuals: A Meta-analysis. *Sports Med*. 2016. 46(1): 125-137.
- Nair K. S., Halliday D. and Griggs R. C. Leucine incorporation into mixed skeletal muscle protein in humans. *Am J Physiol*. 1988. 254(2 Pt 1): E208-213.
- Narici M. Human skeletal muscle architecture studied in vivo by non-invasive imaging techniques: functional significance and applications. *J Electromyogr Kinesiol*. 1999. 9(2): 97-103.
- Narici M. V., Landoni L. and Minetti A. E. Assessment of human knee extensor muscles stress from in vivo physiological cross-sectional area and strength measurements. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1992. 65(5): 438-444.
- Nystrom G. J. and Lang C. H. Sepsis and AMPK Activation by AICAR Differentially Regulate FoxO-1, -3 and -4 mRNA in Striated Muscle. *Int J Clin Exp Med*. 2008. 1(1): 50-63.
- Orchardson R. The generation of nerve impulses in mammalian axons by changing the concentrations of the normal constituents of extracellular fluid. *J Physiol*. 1978. 275: 177-189.
- Pahor M., Manini T. and Cesari M. Sarcopenia: clinical evaluation, biological markers and other evaluation tools. *J Nutr Health Aging*. 2009. 13(8): 724-728.
- Pallet N., Beaune P., Thervet E., Legendre C. and Anglicheau D. [mTOR inhibitors: pleiotropic antiproliferative drugs]. *Med Sci (Paris)*. 2006. 22(11): 947-952.
- Paoli A., Pacelli Q. F., Cancellara P., Toniolo L., Moro T., Canato M., Miotti D., Neri M., Morra A., Quadrelli M. and Reggiani C. Protein Supplementation Does Not Further Increase Latissimus Dorsi Muscle Fiber Hypertrophy after Eight Weeks of Resistance Training in Novice Subjects, but Partially Counteracts the Fast-to-Slow Muscle Fiber Transition. *Nutrients*. 2016. 8(6).
- Phillips S. M. Protein requirements and supplementation in strength sports. *Nutrition*. 2004. 20(7-8): 689-695.
- Phillips S. M. Physiologic and molecular bases of muscle hypertrophy and atrophy: impact of resistance exercise on human skeletal muscle

- (protein and exercise dose effects). *Appl Physiol Nutr Metab.* 2009. 34(3): 403-410.
- Phillips S. M. Current Concepts and Unresolved Questions in Dietary Protein Requirements and Supplements in Adults. *Front Nutr.* 2017. 4: 13.
- Phillips S. M., Hartman J. W. and Wilkinson S. B. Dietary protein to support anabolism with resistance exercise in young men. *J Am Coll Nutr.* 2005. 24(2): 134s-139s.
- Phillips S. M., Moore D. R. and Tang J. E. A critical examination of dietary protein requirements, benefits, and excesses in athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2007. 17 Suppl: S58-76.
- Phillips S. M., Tipton K. D., Aarsland A., Wolf S. E. and Wolfe R. R. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *Am J Physiol.* 1997. 273(1 Pt 1): E99-107.
- Phillips S. M., Tipton K. D., Ferrando A. A. and Wolfe R. R. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. *Am J Physiol.* 1999. 276(1 Pt 1): E118-124.
- Phillips S. M. and Van Loon L. J. Dietary protein for athletes: from requirements to optimum adaptation. *J Sports Sci.* 2011. 29 Suppl 1: S29-38.
- Pritchard H. J., Tod D. A., Barnes M. J., Keogh J. W. and McGuigan M. R. Tapering Practices of New Zealand's Elite Raw Powerlifters. *J Strength Cond Res.* 2016. 30(7): 1796-1804.
- Raastad T., Vagle M. and Framroze B. A Randomized, Double-Blinded Cross-Over Study Comparing Increase in Blood Leucine Levels after Ingestion of Hydrolyzed Salmon and Whey Proteins in Healthy Young Men. *Nutrition and Food Technology.* 2017. 3.2.
- Rassier D. E., MacIntosh B. R. and Herzog W. Length dependence of active force production in skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985).* 1999. 86(5): 1445-1457.
- Ravikumar B., Sarkar S., Davies J. E., Futter M., Garcia-Arencibia M., Green-Thompson Z. W., Jimenez-Sanchez M., Korolchuk V. I., Lichtenberg M., Luo S., Massey D. C., Menzies F. M., Moreau K., Narayanan U., Renna M., Siddiqi F. H., Underwood B. R., Winslow A. R. and Rubinsztein D. C. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2010. 90(4): 1383-1435.
- Reidy P. T. and Rasmussen B. B. Role of Ingested Amino Acids and Protein in the Promotion of Resistance Exercise-Induced Muscle Protein Anabolism. *J Nutr.* 2016. 146(2): 155-183.
- Reitelseder S., Agergaard J., Doessing S., Helmark I. C., Lund P., Kristensen N. B., Frystyk J., Flyvbjerg A., Schjerling P., van Hall G., Kjaer M. and Holm L. Whey and casein labeled with L-[1-13C]leucine and muscle protein synthesis: effect of resistance exercise and protein ingestion. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011. 300(1): E231-242.
- Rennie M. J. Control of muscle protein synthesis as a result of contractile activity and amino acid availability: implications for protein requirements. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2001. 11 Suppl: S170-176.
- Rennie M. J., Bohe J., Smith K., Wackerhage H. and Greenhaff P. Branched-chain amino acids as fuels and anabolic signals in human muscle. *J Nutr.* 2006. 136(1 Suppl): 264s-268s.
- Res P. T., Groen B., Pennings B., Beelen M., Wallis G. A., Gijsen A. P., Senden J. M. and Lj V. A. N. L. Protein ingestion before sleep improves postexercise overnight recovery. *Med Sci Sports Exerc.* 2012. 44(8): 1560-1569.
- Roberts L. A., Raastad T., Markworth J. F., Figueiredo V. C., Egner I. M., Shield A., Cameron-Smith D., Coombes J. S. and Peake J. M. Post-exercise cold water immersion attenuates acute anabolic signalling and long-term adaptations in muscle to strength training. *J Physiol.* 2015. 593(18): 4285-4301.
- Rommel C., Bodine S. C., Clarke B. A., Rossman R., Nunez L., Stitt T. N., Yancopoulos G. D. and Glass D. J. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nat Cell Biol.* 2001. 3(11): 1009-1013.
- Rønnestad B. R., Nygaard H. and Raastad T. Physiological elevation of endogenous hormones results in superior strength training adaptation. *Eur J Appl Physiol.* 2011. 111(9): 2249-2259.
- Roy B. D. Milk: the new sports drink? A Review. *J Int Soc Sports Nutr.* 2008. 5: 15.
- Sale D. G. Neural adaptation to resistance training. *Med Sci Sports Exerc.* 1988. 20(5 Suppl): S135-145.
- Sandri M., Sandri C., Gilbert A., Skurk C., Calabria E., Picard A., Walsh K., Schiaffino S., Lecker S. H. and Goldberg A. L. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and

- cause skeletal muscle atrophy. *Cell*. 2004. 117(3): 399-412.
- Sapp R. M., Shill D. D., Roth S. M. and Hagberg J. M. Circulating microRNAs in acute and chronic exercise: more than mere biomarkers. *J Appl Physiol* (1985). 2017. 122(3): 702-717.
- Schoenfeld B. J. Postexercise hypertrophic adaptations: a reexamination of the hormone hypothesis and its applicability to resistance training program design. *J Strength Cond Res*. 2013. 27(6): 1720-1730.
- Schoenfeld B. J., Aragon A. A. and Krieger J. W. The effect of protein timing on muscle strength and hypertrophy: a meta-analysis. *J Int Soc Sports Nutr*. 2013. 10(1): 53.
- Schoenfeld B. J., Aragon A. A., Wilborn C., Urbina S. L., Hayward S. E. and Krieger J. Correction: Pre-versus post-exercise protein intake has similar effects on muscular adaptations. *PeerJ*. 2017. 5.
- Schoenfeld B. J., Wilson J. M., Lowery R. P. and Krieger J. W. Muscular adaptations in low- versus high-load resistance training: A meta-analysis. *Eur J Sport Sci*. 2016. 16(1): 1-10.
- Sheldon W. H., Dupertuis C. W. and Mcdermott E. *Atlas of Men: A guide for Somatotyping the Adult Male at All Ages*. Harper & Row. 1954. 1-357.
- Shoepe T. C., Stelzer J. E., Garner D. P. and Widrick J. J. Functional adaptability of muscle fibers to long-term resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2003. 35(6): 944-951.
- Sjogaard G. Muscle energy metabolism and electrolyte shifts during low-level prolonged static contraction in man. *Acta Physiol Scand*. 1988. 134(2): 181-187.
- Sjogaard G., Adams R. P. and Saltin B. Water and ion shifts in skeletal muscle of humans with intense dynamic knee extension. *Am J Physiol*. 1985. 248(2 Pt 2): R190-196.
- Smith G. I., Atherton P., Reeds D. N., Mohammed B. S., Rankin D., Rennie M. J. and Mittendorfer B. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2011. 93(2): 402-412.
- Snijders T., Res P. T., Smeets J. S., van Vliet S., van Kranenburg J., Maase K., Kies A. K., Verdijk L. B. and van Loon L. J. Protein Ingestion before Sleep Increases Muscle Mass and Strength Gains during Prolonged Resistance-Type Exercise Training in Healthy Young Men. *J Nutr*. 2015. 145(6): 1178-1184.
- Staples A. W., Burd N. A., West D. W., Currie K. D., Atherton P. J., Moore D. R., Rennie M. J., Macdonald M. J., Baker S. K. and Phillips S. M. Carbohydrate does not augment exercise-induced protein accretion versus protein alone. *Med Sci Sports Exerc*. 2011. 43(7): 1154-1161.
- Stark M., Lukaszuk J., Prawitz A. and Salacinski A. Protein timing and its effects on muscular hypertrophy and strength in individuals engaged in weight-training. *J Int Soc Sports Nutr*. 2012. 9(1): 54.
- Steinberg G. R. and Kemp B. E. AMPK in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2009. 89(3): 1025-1078.
- Suchomel T. J., Nimphius S. and Stone M. H. The Importance of Muscular Strength in Athletic Performance. *Sports Med*. 2016. 46(10): 1419-1449.
- Svanberg E., Moller-Loswick A. C., Matthews D. E., Korner U., Andersson M. and Lundholm K. The role of glucose, long-chain triglycerides and amino acids for promotion of amino acid balance across peripheral tissues in man. *Clin Physiol*. 1999. 19(4): 311-320.
- Symons T. B., Sheffield-Moore M., Wolfe R. R. and Paddon-Jones D. A moderate serving of high-quality protein maximally stimulates skeletal muscle protein synthesis in young and elderly subjects. *J Am Diet Assoc*. 2009. 109(9): 1582-1586.
- Takano H., Morita T., Iida H., Asada K., Kato M., Uno K., Hirose K., Matsumoto A., Takenaka K., Hirata Y., Eto F., Nagai R., Sato Y. and Nakajima T. Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. *Eur J Appl Physiol*. 2005. 95(1): 65-73.
- Talbot J. A. and Morgan D. L. The effects of stretch parameters on eccentric exercise-induced damage to toad skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil*. 1998. 19(3): 237-245.
- Tang J. E., Moore D. R., Kujbida G. W., Tarnopolsky M. A. and Phillips S. M. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol* (1985). 2009. 107(3): 987-992.
- Tang J. E., Perco J. G., Moore D. R., Wilkinson S. B. and Phillips S. M. Resistance training alters the response of fed state mixed muscle protein synthesis

in young men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008. 294(1): R172-178.

Tarnopolsky M. A., Atkinson S. A., MacDougall J. D., Chesley A., Phillips S. and Schwarcz H. P. Evaluation of protein requirements for trained strength athletes. *J Appl Physiol* (1985). 1992. 73(5): 1986-1995.

Terzis G., Georgiadis G., Stratakis G., Vogiatzis I., Kavouras S., Manta P., Mascher H. and Blomstrand E. Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects. *Eur J Appl Physiol*. 2008. 102(2): 145-152.

Thevis M. and Schanzer W. Emerging drugs affecting skeletal muscle function and mitochondrial biogenesis - Potential implications for sports drug testing programs. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2016. 30(5): 635-651.

Tihanyi J., Apor P. and Fekete G. Force-velocity-power characteristics and fiber composition in human knee extensor muscles. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1982. 48(3): 331-343.

Tipton K. D. Role of protein and hydrolysates before exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2007. 17 Suppl: S77-86.

Tipton K. D., Gurkin B. E., Matin S. and Wolfe R. R. Nonessential amino acids are not necessary to stimulate net muscle protein synthesis in healthy volunteers. *J Nutr Biochem*. 1999. 10(2): 89-95.

Trappe S., Luden N., Minchev K., Raue U., Jemiolo B. and Trappe T. A. Skeletal muscle signature of a champion sprint runner. *J Appl Physiol* (1985). 2015. 118(12): 1460-1466.

Trommelen J. and van Loon L. J. Pre-Sleep Protein Ingestion to Improve the Skeletal Muscle Adaptive Response to Exercise Training. *Nutrients*. 2016. 8(12).

van Vliet S., Burd N. A. and van Loon L. J. The Skeletal Muscle Anabolic Response to Plant- versus Animal-Based Protein Consumption. *J Nutr*. 2015. 145(9): 1981-1991.

van Zandwijk J. P., Bobbert M. F., Baan G. C. and Huijings P. A. From twitch to tetanus: performance of excitation dynamics optimized for a twitch in predicting tetanic muscle forces. *Biol Cybern*. 1996. 75(5): 409-417.

Velloso C. P. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. *Br J Pharmacol*. 2008. 154(3): 557-568.

Walrand S., Short K. R., Bigelow M. L., Sweatt A. J., Hutson S. M. and Nair K. S. Functional impact of high protein intake on healthy elderly people. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008. 295(4): E921-928.

Waterlow J. C., Golden M. H. and Garlick P. J. Protein turnover in man measured with ¹⁵N: comparison of end products and dose regimes. *Am J Physiol*. 1978. 235(2): E165-174.

West D. W., Burd N. A., Coffey V. G., Baker S. K., Burke L. M., Hawley J. A., Moore D. R., Stellingwerff T. and Phillips S. M. Rapid aminoacidemia enhances myofibrillar protein synthesis and anabolic intramuscular signaling responses after resistance exercise. *Am J Clin Nutr*. 2011. 94(3): 795-803.

West D. W. and Phillips S. M. Associations of exercise-induced hormone profiles and gains in strength and hypertrophy in a large cohort after weight training. *Eur J Appl Physiol*. 2012. 112(7): 2693-2702.

Westerblad H., Lee J. A., Lannergren J. and Allen D. G. Cellular mechanisms of fatigue in skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1991. 261(2 Pt 1): C195-209.

White. Growth Factors and Cytokines in Skeletal Muscle Development, Growth, Regeneration and Disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016. 900: 199.

White J. P., Gao S., Puppa M. J., Sato S., Welle S. L. and Carson J. A. Testosterone regulation of Akt/mTORC1/FoxO3a signaling in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol*. 2013. 365(2): 174-186.

Widrick J. J., Stelzer J. E., Shoenberger T. C. and Garner D. P. Functional properties of human muscle fibers after short-term resistance exercise training. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002. 283(2): R408-416.

Wilborn C. D., Taylor L. W., Outlaw J., Williams L., Campbell B., Foster C. A., Smith-Ryan A., Urbina S. and Hayward S. The Effects of Pre- and Post-Exercise Whey vs. Casein Protein Consumption on Body Composition and Performance Measures in Collegiate Female Athletes. *J Sports Sci Med*. 2013. 12(1): 74-79.

Wilkinson D. J., Hossain T., Hill D. S., Phillips B. E., Crossland H., Williams J., Loughna P., Churchward-Venne T. A., Breen L., Phillips S. M., Etheridge T., Rathmacher J. A., Smith K., Szewczyk N. J. and Atherton P. J. Effects of leucine and its metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on

human skeletal muscle protein metabolism. *J Physiol.* 2013. 591(11): 2911-2923.

Wilkinson S. B., Phillips S. M., Atherton P. J., Patel R., Yarasheski K. E., Tarnopolsky M. A. and Rennie M. J. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *J Physiol.* 2008. 586(15): 3701-3717.

Wilkinson S. B., Tarnopolsky M. A., Macdonald M. J., Macdonald J. R., Armstrong D. and Phillips S. M. Consumption of fluid skim milk promotes greater muscle protein accretion after resistance exercise than does consumption of an isonitrogenous and isoenergetic soy-protein beverage. *Am J Clin Nutr.* 2007. 85(4): 1031-1040.

Willardson J. M. The application of training to failure in periodized multiple-set resistance exercise programs. *J Strength Cond Res.* 2007. 21(2): 628-631.

Witard O. C., Jackman S. R., Breen L., Smith K., Selby A. and Tipton K. D. Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of whey protein at rest and after resistance exercise. *Am J Clin Nutr.* 2014. 99(1): 86-95.

Wolfson R. L., Chantranupong L., Saxton R. A., Shen K., Scaria S. M., Cantor J. R. and Sabatini D. M. Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science.* 2016. 351(6268): 43-48.

Wolosker H. and de Meis L. pH-dependent inhibitory effects of Ca²⁺, Mg²⁺, and K⁺ on Ca²⁺ efflux mediated by sarcoplasmic reticulum ATPase. *Am J Physiol.* 1994. 266(5 Pt 1): C1376-1381.

Yarasheski K. E., Campbell J. A., Smith K., Rennie M. J., Holloszy J. O. and Bier D. M. Effect of growth hormone and resistance exercise on muscle growth in young men. *Am J Physiol.* 1992. 262(3 Pt 1): E261-267.

Zhao J., Brault J. J., Schild A., Cao P., Sandri M., Schiaffino S., Lecker S. H. and Goldberg A. L. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metab.* 2007. 6(6): 472-483.

Zhao W., Pan J., Zhao Z., Wu Y., Bauman W. A. and Cardozo C. P. Testosterone protects against dexamethasone-induced muscle atrophy, protein degradation and MAFbx upregulation. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008. 110(1-2): 125-129.

ANNEXES

POSTER 1

PROTEIN DURING RECOVERY FROM RESISTANCE TRAINING : IS THERE AN OPTIMAL RATIO BETWEEN FAST AND SLOW PROTEINS ?

M. FABRE¹, E. TIOLLIER¹, J. LOUIS¹, A. DURGUERIAN², C. HAUSWIRTH¹, X. BIGARD^{1,2}

¹ French National Institute of Sport (INSEP), Research Department, Laboratory Sport, Expertise and Performance, EA7370, Paris, France.

² Laboratoire OMR5, EA4532, Université Paris Sud 11, France.

³ Agence Française de Lutte contre le Dopage (AFLD), Paris, France.

INSEP
Terre de Champions

GEORGE LACTALIS

Introduction

Protein intake at the end of resistance exercise provides essential amino acids (EAA) for muscle recovery and contributes to muscle anabolism. A single bolus of ~ 20 g of protein after resistance exercise provides a maximal anabolic stimulus during the early post-exercise recovery (~ 3h). But when exercise is combined with protein intake, the anabolic stimulus is longer than 3h (~ 4h-4h30).

So, is there a need of mixing rapid and slow proteins within the recovery drink after resistance exercise in order to meet the specific amino acids requirements after resistance exercise ?

Aim

To compare the effects of 3 recovery drinks with different ratios between fast and slow proteins (100/0% comprised only fast proteins ; 50/50% comprised 50% of fast- and 50% of slow proteins ; and 20/80% comprised 20% of fast- and 80% of slow proteins) after 9 weeks of resistance training, on :

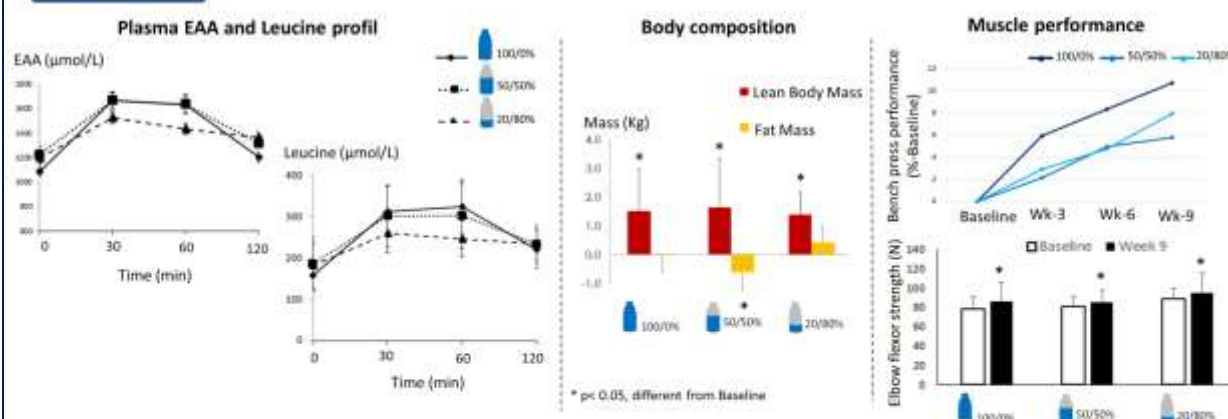
1. Plasma aminoacid profiles after exercise,
2. Muscle mass gain,
3. Changes in muscle performance.

Materials and Methods

N = 10 subjects/group ; Mean BW = 76 Kg ; Mean Age = 25 years old ; Drinks composition : ~ 20 g of proteins - 20 g of carbohydrates



Results



Higher bioavailability of EAA and Leucine with the two drinks enriched with fast proteins (100/0% and 50/50%); but no statistical difference from each other.

Muscle mass and muscle performance were enhanced with training, with no statistical difference between groups.

Conclusion

Recovery drinks enriched with at least 10 g of fast proteins, provide a higher bioavailability in EAA and Leucine after resistance exercise. However, this does not result in higher responses to 9 weeks of resistance training, at least under our experimental conditions. The optimal recovery drink composition (i.e. ratio between fast and slow proteins) after resistance exercise remains to be determined.

References

Ahernton and Smith, J. Physiol., 2012.
Bolin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997.
Moore et al., Am. J. of Clin. Nutr., 2009.

POSTER 2



PROTEIN SUPPLEMENTATION DURING RESISTANCE TRAINING: EFFECTS OF CASEIN ON MUSCLE MASS AND STRENGTH GAINS



Marina Fabre¹, Eve Tiohler¹, Odeline Molle¹, Xavier Bigard^{1,2}

¹ Laboratoire Sport, Expertise et Performance EA 7370 – French National Institute of Sport, Expertise and Performance, Paris, France.

² French Antidoping Agency (AFLD), Paris, France.

INTRODUCTION & OBJECTIVES

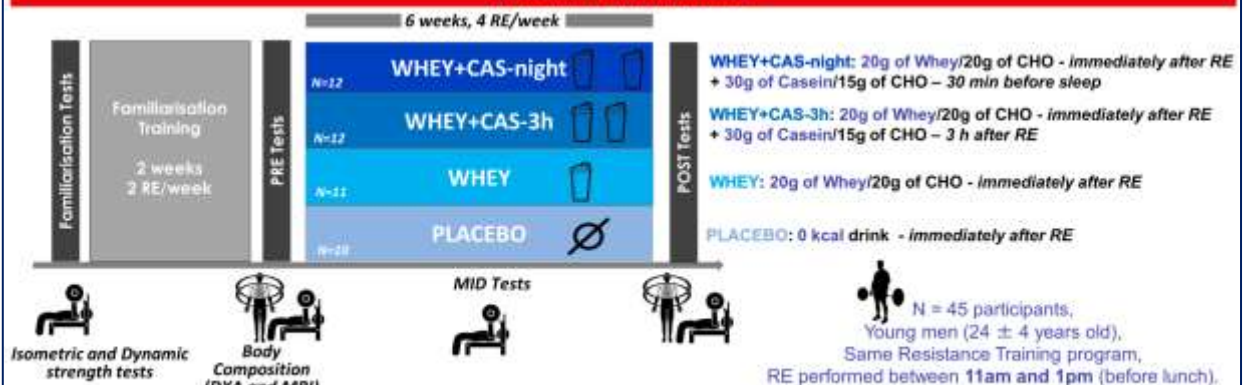
Protein intake can optimize muscle adaptations from Resistance Training (RT). It has been shown that when exercise is performed in the evening, Casein intake before sleep improved Muscle Protein Synthesis (MPS) throughout the night (1), and enhanced muscle mass and strength gains in response to RT (2).



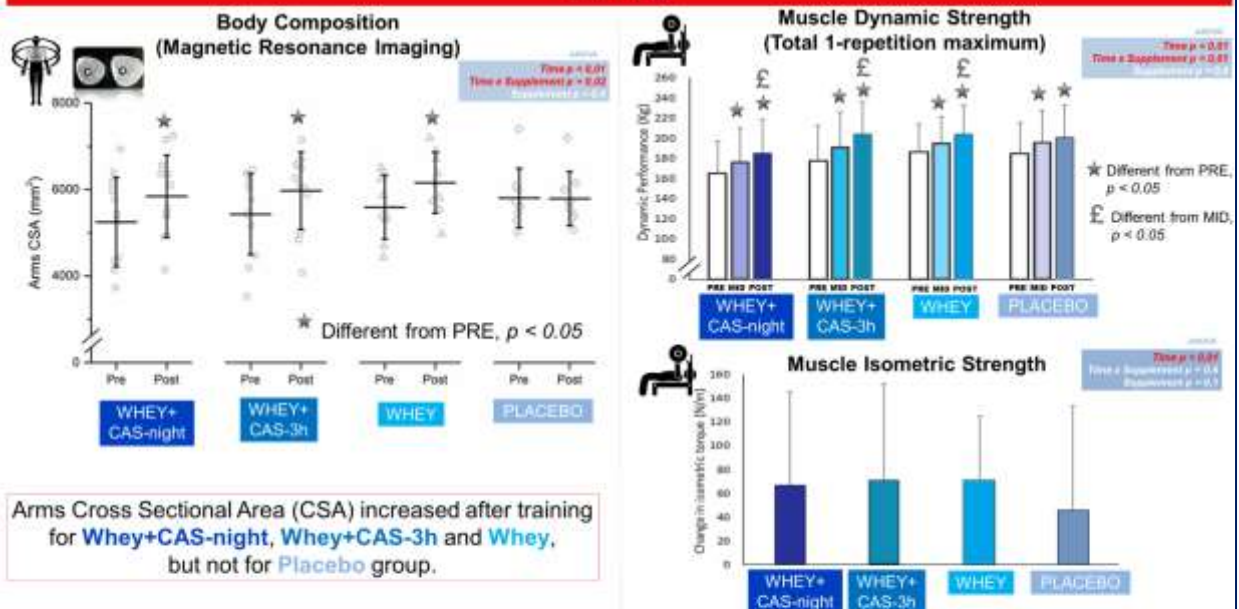
Objectives Investigate the effects of Casein intake:

1. On muscle mass and strength gains during RT in comparison to whey intake,
2. Determine the optimal timing of casein intake, a) before sleep, or b) 3 hours after each Resistance Exercise (RE).

MATERIAL AND METHODS



RESULTS



CONCLUSION

Whey intake (20g) immediately after each Resistance Exercise improves muscle mass and strength gains compared to Placebo. Adding **Casein** (30g) 3 hours after Resistance Exercise or before sleep does not result in further muscle adaptations when exercise is performed in the morning.

REFERENCES

Ross et al. Protein ingestion before sleep improves post exercise overnight recovery. MSSE, 2012.
Anjilvel et al. Protein ingestion before sleep increases muscle mass and strength gains during prolonged resistance-type exercise training in healthy young men. J Am Coll Nutr, 2015.