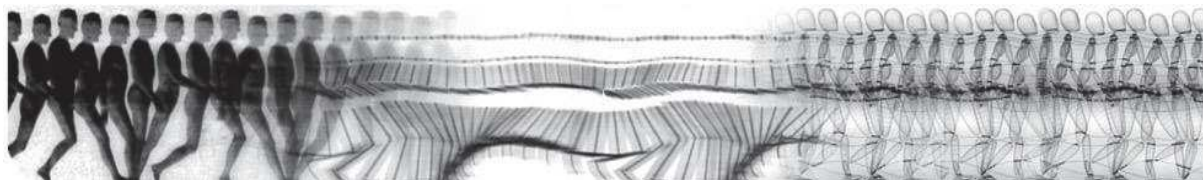


Université de Bourgogne Franche-Comté
Faculté des Sciences du Sport - Unité de Formation et de Recherche en Sciences et
Techniques des Activités Physiques et Sportives
INSERM U1093 "Cognition Action et Plasticité Sensorimotrice"



THESE DE DOCTORAT

En vue de l'obtention du grade de Docteur d'Université
Sous la direction de Gaëlle DELEY et Maria PAPAIORDANIDOU

EFFETS AIGUS ET CHRONIQUES DE L'ELECTROSTIMULATION APPLIQUÉE AU NIVEAU DU NERF MOTEUR : IMPORTANCE DU RETOUR AFFÉRENT

Présentée et soutenue publiquement par

Florian VITRY

Devant le jury composé de :

Pr Jacques DUCHATEAU	Rapporteur	Université de Bruxelles
Dr Nicola MAFFIULETTI	Rapporteur	Schulthess Klinik de Zurich
Pr Raphaël ZORY	Examineur	Université de Nice
Pr Romuald LEPERS	Examineur	Université de Bourgogne Franche-Comté
Dr Gaëlle DELEY	Directeur	Université de Bourgogne Franche-Comté
Dr Maria PAPAIORDANIDOU	Co-directeur	Université de Bourgogne Franche-Comté



Pour toi mon Papy....

REMERCIEMENTS

Maria, un immense merci pour ces 3 ans. Merci pour ta disponibilité, ta réactivité et ta bonne humeur qui ont fait de cette thèse une période riche pour moi. Merci pour ton soutien et ton encadrement, tu as su me pousser toujours plus loin ! Enfin, merci pour les connaissances scientifiques que tu m'as apportées. Ta rigueur et ton sens des détails ne pourront m'être que bénéfiques pour la suite !

Gaëlle, merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir accepté en thèse sous ta direction à l'issue de mon Master. Merci pour ta disponibilité, ton soutien, ta gentillesse et ta bonne humeur !

Harris Papaxanthis, merci de m'avoir accueilli au sein du laboratoire INSERM U1093, avec des conditions de travail idéales pour un doctorant !

Alain Martin, merci pour toutes tes explications, pour ta disponibilité et ta bonne humeur. Quel plaisir d'avoir pu échanger avec toi, toujours un avis pertinent, merci pour les connaissances scientifiques que tu m'as apportées.

Jacques Duchateau, Nicolas Maffiuletti, Raphaël Zory et Romuald Lepers, merci de me faire l'honneur d'évaluer mon travail. Je suis fier de pouvoir soumettre mon travail à votre expertise.

David Guiraud, pour avoir accepté de faire partie de mon comité de suivi de thèse, et pour avoir contribué à faire avancer ma réflexion sur cette thèse.

Cyril et Yves, merci à vous pour les dépannages express en salle biodex ! Toujours présents quand j'ai eu besoin de vous ! Merci pour votre gentillesse, et merci Cyril pour cette petite blague de la machine à café où tu nous auras bien fait rire.

Elisabeth, Sylvain, Virginie, merci à vous pour votre disponibilité et votre réactivité pour tous les documents administratifs, notamment après les retours de congrès ! Merci pour votre bonne humeur et votre gentillesse.

France, Jérémie, un plaisir de vous avoir côtoyés durant ces trois années à Marey, merci pour votre gentillesse et votre bonne humeur ! Toujours un plaisir d'avoir partagé des pauses café avec vous.

Benjamin, un grand merci à toi qui m'a donné le goût à la recherche au cours de mon master. J'ai beaucoup appris à tes côtés, tu m'as transmis ta rigueur et ta passion ! J'espère que tout se passe bien pour toi dans ta nouvelle vie au Canada.

Merci à tous les enseignants du laboratoire que j'ai côtoyés régulièrement au STAPS durant ces trois années !

Un grand merci aux doctorants que j'ai côtoyés durant ces trois ans, pour tous ces bons moments passés à vos côtés, à ces moments de rigolades, à refaire le monde, ou à débriefer des événements sportifs. Cette bonne ambiance a contribué à l'envie de venir travailler tous les jours au bureau. Un grand merci en particulier à Yoann, Julie, Elodie, Célia et Gabriel ! Merci à Cécilia pour le soutien lors de la dernière ligne droite, mais aussi à tous les autres : Julien, Jules, Loïc, Pierre, Marie, Nicolas, Dylan, Clémence, David, Clément et Amandine.

Les sujets et amis, un grand merci à vous tous, fidèles depuis le Master pour beaucoup d'entre vous ! Merci pour le temps que vous m'avez accordé (notamment sur l'entraînement). Quel plaisir de vous avoir reçus à Marey sur la chaise de torture ou avec le casque comme disaient certains ! Ce travail n'aurait pas été possible sans votre investissement sans faille, alors un grand merci !

Un grand merci à mes meilleures amies Louise et Violène, le temps a passé depuis nos débuts à l'amphi Mieusset. Merci pour votre soutien, pour votre présence, pour tous ces bons moments passés avec vous !

La famille,

Quentin, Papa, Maman, Mamie et Papy, merci pour votre amour, pour votre soutien, pour votre présence pendant toutes ces années d'études. Que de chemin parcouru.... Merci d'être là pour moi ! Papy je pense fort à toi, je sais que de là où tu es, tu es fier de ton petit fils.

Tonton Yann, Tata Céline, Tonton JP, Tata Nathalie, les cousins Louis, Nathan, Théo, Zélie, Matthieu, merci pour votre soutien et votre présence ! Quel plaisir de se retrouver tous ensemble !

La belle-famille, Christelle, Francis, Mamie et toute la team des Thénards (Briv, Coco, Nico, Math, Mimi, Noémie et Jul), merci pour tous ces bons moments partagés ensemble, je suis tellement content de vous avoir !

Anaëlle, ma "zouzou", merci pour ton soutien, ta patience et ton amour. Merci de m'avoir supporté et encouragé dans les moments difficiles...Merci d'être présente et d'avoir supporté un thésard stressé qui mange ses doigts... Merci de m'avoir laissé profiter du foot pour m'aérer les neurones. Tu es ma force au quotidien, sans toi je n'en serais pas là. Je t'aime.

LISTE DES PUBLICATIONS ET DES COMMUNICATIONS

Ce travail a fait l'objet des publications suivantes :

Vitry F., Deley G., Martin A., Papaïordanidou M. (2019). Effect of reflexive activation of motor units on torque development during electrically-evoked contractions of the triceps sural muscle. *Journal of Applied Physiology*, 126: 386-392.

<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00463.2018>

Vitry F., Martin A., Papaïordanidou M. (2019). Torque gains and neural adaptations following low intensity motor nerve electrical stimulation training. *Journal of Applied Physiology*, 127(5): 1469-1477.

<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00513.2019>

Vitry F., Martin A., Papaïordanidou M. (2019). Impact of stimulation frequency on neuromuscular fatigue. *European Journal of Applied Physiology*, 119: 2609-2616.

<https://doi.org/10.1007/s00421-019-04239-x>

Vitry F., Martin A., Papaïordanidou M. Mechanisms modulating spinal excitability after nerve stimulation inducing extra torque development (soumis).

Ce travail a fait l'objet des communications orales suivantes :

Vitry F., Deley G., Martin A., Papaïordanidou M. Effect of stimulation frequency on corticospinal excitability, *XXII^e Congrès du Collège Européen des Sciences du Sport*, Essen, Allemagne, Juillet 2017.

Vitry F., Deley G., Martin A., Papaïordanidou M. Impact de la voie d'activation des unités motrices sur l'extra force, *XVII^e Congrès de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives*, Dijon, France, Octobre 2017.

Vitry F., Martin A., Papaïordanidou M. Neuromuscular adaptations induced by electrical stimulation training applied over the nerve at low intensity, *XXIII^e Congrès du Collège Européen des Sciences du Sport*, Prague, République Tchèque, Juillet 2019.

Vitry F., Martin A., Papaiordanidou M. Impact de fréquence de stimulation sur la fatigue neuromusculaire, *XVIII^e Congrès de l'Association des Chercheurs en Activités Physiques et Sportives*, Paris, France, Octobre 2019.

Ce travail a fait l'objet des communications affichées suivantes :

Vitry F., Deley G., Martin A., Papaiordanidou M. Modalités d'occurrence de l'extra force, *XXIII^e Forum des Jeunes Chercheurs*, Dijon, France, Juin 2017.

SOMMAIRE

SOMMAIRE	1
LISTE DES ABRÉVATIONS	3
TABLE DES ILLUSTRATIONS	4
I. INTRODUCTION GENERALE	6
II. EFFETS AIGUS DE L'ELECTROSTIMULATION	9
1. L'électrostimulation : Historique	10
2. Principes de l'électrostimulation	13
2.1. Définition	13
2.2. Courants	13
2.3. Durée d'impulsion	15
2.4. Intensité	16
2.5. Fréquence	18
2.6. Cycle de travail	19
3. Bases physiologiques	20
3.1. Recrutement des UM	20
3.2. Sollicitation métabolique	24
4. Fatigue	25
5. Les méthodes utilisées pour réduire la fatigue par électrostimulation	28
6. Contribution expérimentale	37
7. Résumé et perspectives	46
III. EFFETS CHRONIQUES DE L'ELECTROSTIMULATION	47
1. Introduction	48
2. Adaptations musculaires	48
3. Adaptations nerveuses	49
3.1. Niveau d'activation volontaire	49
3.2. Activité électromyographique	51
3.3. Potentiel moteur évoqué	52
3.4. Le réflexe V	54
3.5. Le réflexe H	55
4. Entraînement par électrostimulation	58
5. Contribution expérimentale	61
6. Résumé et synthèse	71
IV. EXTRA FORCE ET RETOUR AFFERENT	72
1. L'extra force	73
2. Variabilité de l'extra force	73

3. Evaluation de l'extra force	75
4. Contribution expérimentale.....	79
5. Résumé et synthèse	87
V. MODULATION DE L'EXCITABILITE SPINALE INDUITE PAR L'EXTRA FORCE	88
1. Inhibition présynaptique : mécanisme de la Dépolarisation Afférente Primaire (PAD)...	89
2. Inhibition présynaptique : mécanisme de Dépression Post Activation (HPAD)	90
3. Modification de l'excitabilité des motoneurones	91
4. Contribution expérimentale.....	94
5. Résumé et synthèse	115
VI. DISCUSSION GENERALE.....	116
VII. BIBLIOGRAPHIE.....	124
VIII. ANNEXES	141

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CMV	Contraction Maximale Volontaire
EMG	Electromyographie
GL	Gastrocnémien Latéral
GM	Gastrocnémien Médial
Hmax	Réflexe H maximal
HPAD	Dépression Post Activation
MatHmax	Onde M associée au réflexe Hmax
MEP	Potentiel Moteur Evoqué
Mmax	Onde M maximale
PAD	Dépolarisation Afférente Primaire
PIC	Persistent Inward Current
RMS	Root Meane Square
SOL	Soléaire
TA	Tibial Antérieur
TENS	Stimulation Nerveuse Transcutanée
TMS	Stimulation Magnétique Transcrânienne
TTI	Intégral Moment-Temps
UM	Unité Motrice
VL	Vaste Latéral
WPHF	Wide Pulse High Frequency

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. Illustration des travaux expérimentaux de Galvani.

Figure 2. Expériences de Duchenne de Boulogne.

Figure 3. Principaux paramètres de stimulation d'un courant à impulsions biphasiques symétriques rectangulaires (durée d'impulsion, intensité, fréquence).

Figure 4. Relation intensité (mA) en fonction de la durée (μ s) pour une stimulation délivrée sur le muscle et sur le nerf.

Figure 5. Relation force développée en fonction de l'intensité de stimulation.

Figure 6. Réponse mécanique du muscle à des stimuli électriques à différentes fréquences de stimulation.

Tableau 1. Récapitulatif des caractéristiques des protocoles classiquement utilisés en électrostimulation.

Figure 7. Ordre de recrutement physiologique des UM selon le principe de taille d'Henneman (1965).

Figure 8. Exemple de 2 stimulations délivrées à l'intensité de stimulation, indiquant un recrutement direct et indirect des unités motrices.

Figure 9. Comparaison de la concentration en lactate sanguin et du quotient respiratoire.

Figure 10. Comparaison de la consommation en oxygène et de la ventilation.

Figure 11. Représentation schématique des origines nerveuses et musculaires de la fatigue neuromusculaire.

Figure 12. Force développée avec les paramètres de stimulation Wide Pulse High Frequency (WPHF) vs. Conventionnel (CONV).

Figure 13. Effet d'un bloc nerveux sur la production de force.

Figure 14. Comparaison de la stimulation nerveuse et musculaire.

Figure 15. Calcul du niveau d'activation volontaire, selon la correction de Strojnik et Komi.

Figure 16. Représentation des zones corticales de l'aire motrice primaire.

Figure 17. Tracés expérimentaux de courbes de recrutement pour les potentiels moteurs évoqués (Motor Evoked Potential, MEP).

Figure 18. Enregistrement d'un potentiel moteur évoqué (MEP), pouvant être analysé par son amplitude et sa période de silence.

Figure 19. Enregistrement du réflexe V pendant une contraction.

Figure 20. Enregistrement du réflexe H au repos.

Figure 21. Exemple de courbes de recrutement pour le réflexe H et l'onde M.

Figure 22. Différentes méthodes de calcul de l'extra force.

Figure 23. Différents profils de force.

Figure 24. Mécanisme de l'inhibition présynaptique (Primary Afferent Depolarization).

Figure 25. Mécanisme de l'inhibition présynaptique (Homosynaptic Post Activation Depression).

Figure 26. Tracés expérimentaux pour un sujet présentant une importante activité EMG soutenue après un train de stimulation.

Figure 27. Mécanisme de l'inhibition réciproque.

Figure 28. Mécanisme de l'inhibition récurrente.

I.INTRODUCTION GENERALE

L'électrostimulation est une technique qui induit une contraction musculaire sans commande volontaire au préalable. En effet, elle consiste à évoquer une contraction musculaire via l'application d'un courant électrique exogène, par l'intermédiaire d'électrodes positionnées sur la surface du muscle ou au niveau du nerf moteur. Elle est aujourd'hui largement utilisée, en substitution ou en complément de contractions volontaires, dans les domaines clinique et sportif avec comme objectif principal d'augmenter la force musculaire. Bien que son efficacité ne soit plus à prouver, de nombreuses questions pratiques et fondamentales, concernant l'optimisation et l'impact de son application sur le système neuromusculaire, restent toujours méconnues.

D'un point de vue physiologique, l'électrostimulation entraîne un recrutement spécifique des unités motrices (UM) défini comme étant aléatoire (non ordonné), synchrone (pas de modulation de la fréquence de décharge) et spatialement fixe (pas de rotation des UM) comparé au mode volontaire (sélectif, asynchrone et spatialement non fixe) (Gregory et Bickel 2005). Par conséquent, ce mode de recrutement particulier des UM est à l'origine d'une sollicitation métabolique plus importante lors de contractions induites électriquement par rapport au mode volontaire, provoquant ainsi une importante fatigue musculaire (Theurel et al. 2007). Dans un contexte clinique mais aussi d'entraînement pour les sportifs, de nombreux travaux ont longtemps essayé de minimiser la fatigue en modulant les paramètres de stimulation (Binder-Macleod et Scott 2001; Gregory et al. 2007; Kesar et Binder-Macleod 2006; Scott et al. 2007), sans toutefois parvenir à trouver un véritable consensus. Ainsi, les protocoles classiquement utilisés jusqu'à présent appliquent des basses fréquences de stimulation (15 à 40 Hz) dans le domaine clinique, et des hautes fréquences de stimulation dans le domaine sportif (supérieures à 80 Hz), associées à des largeurs d'impulsion de 200 à 400 μ s et délivrées à de hautes intensités de stimulation, toujours appliquées au niveau du ventre musculaire. Ces modalités favorisent un recrutement direct des UM via l'activation des axones moteurs (Collins 2007), et ne permettent pas de réduire la fatigue musculaire induite.

Afin de réduire la fatigue induite par ces protocoles, d'autres protocoles ont été proposés. Ils associent des hautes fréquences de stimulation, une grande largeur d'impulsion et une faible intensité de stimulation [Wide Pulse High Frequency (WPHF) (Collins et al. 2001, 2002)]. Il a été montré que les protocoles WPHF pouvaient induire chez certains sujets une augmentation de la force développée lors de la contraction, appelée extra force. Ce phénomène serait dû à l'activation indirecte des motoneurones alpha via les afférences sensorielles de gros diamètre.

Ce mode d'activation induirait un recrutement des UM similaire à celui observé lors de contractions volontaires, conduisant à des contractions moins fatigantes que l'électrostimulation appliquée avec les modalités classiques. Cela pourrait présenter un avantage considérable lors de l'application clinique de l'électrostimulation. Cependant, les adaptations neuromusculaires induites suite à une application aiguë ou chronique des protocoles permettant le développement d'extra force ont très peu été étudiées. Ainsi, des preuves solides concernant l'efficacité de ces protocoles en termes de fatigue induite et des effets sur la capacité du muscle à générer de la force après une application chronique sont actuellement manquantes.

Par conséquent, l'étude des effets de ces protocoles sur le système neuromusculaire lors d'une application aiguë dans un premier temps, puis chronique dans un deuxième temps fera l'objet de la première partie de ce travail de thèse. Les premiers résultats ayant permis de mettre en évidence l'importance du phénomène d'extra force sur les adaptations induites, l'étude de ce phénomène, à travers des conditions permettant son développement, puis des modulations induites au niveau spinal, feront l'objet de la seconde partie de ce travail de thèse. Après avoir présenté les 4 études de ce travail de thèse, une dernière partie sera composée d'une discussion générale qui permettra de synthétiser et d'interpréter les résultats obtenus lors des différentes études.

II. EFFETS AIGUS DE L'ELECTROSTIMULATION

1. L'électrostimulation : Historique

Les prémices de la stimulation électrique ont débuté dès l'Antiquité. En effet, à cette époque les propriétés électriques de certains poissons, tels que la torpille et le gymnote, ont été utilisées pour soigner différentes affections comme la goutte ou les céphalées par un effet d'engourdissement sur les zones douloureuses. Malgré ces premières découvertes, les premiers travaux sur les propriétés électriques et magnétiques de nombreux matériaux ne sont publiés qu'en 1600 en Angleterre par le médecin de la reine Elisabeth, William Gilbert. Il invente le mot électrique, à partir du grec *elektron* qui signifie ambre jaune. La première machine électrique est construite en 1663 par Otto Von Guericke, physicien allemand, capable de produire des étincelles par frottement d'une boule de soufre sur un axe vertical. Puis, au XVIIIème siècle, la bouteille de Leyde est découverte, elle s'apparente à un condensateur stockant l'énergie électrique. Ainsi, les premières applications médicales en découlent notamment par le professeur de médecine, Christian Kratzenstein, qui l'utilisa dans le traitement de la contracture d'un doigt.

Les découvertes de Luigi Galvani, professeur d'anatomie, permirent ensuite d'entrer dans une nouvelle ère. En effet, il mit en évidence en 1786, l'existence d'une « électricité animale » à partir de la contraction de muscles de grenouilles mis en contact avec une machine électrostatique (Figure 1). Selon lui, l'application d'une tige métallique sur un nerf et un muscle provoquerait une décharge électrique de celui-ci vers la tige. De son côté, Alessandro Volta, professeur de philosophie, reste persuadé que les contractions des muscles de grenouilles sont produites par la mise en contact de deux métaux différents. La polémique entre les deux interprétations s'arrêta quand Volta mit au point en 1800, la première pile électrique (pile voltaïque) en remplaçant la cuisse de grenouille par du carton humide prouvant ainsi la véracité de son interprétation. Ce principe permet à des médecins de l'époque de traiter des paralysies d'origines différentes. Cependant, l'utilisation de ces appareils ne fut qu'éphémère puisqu'ils étaient très onéreux et nécessitaient surtout des révisions constantes afin de les conserver en état de marche, faisant ainsi tomber provisoirement l'électrothérapie dans l'oubli.

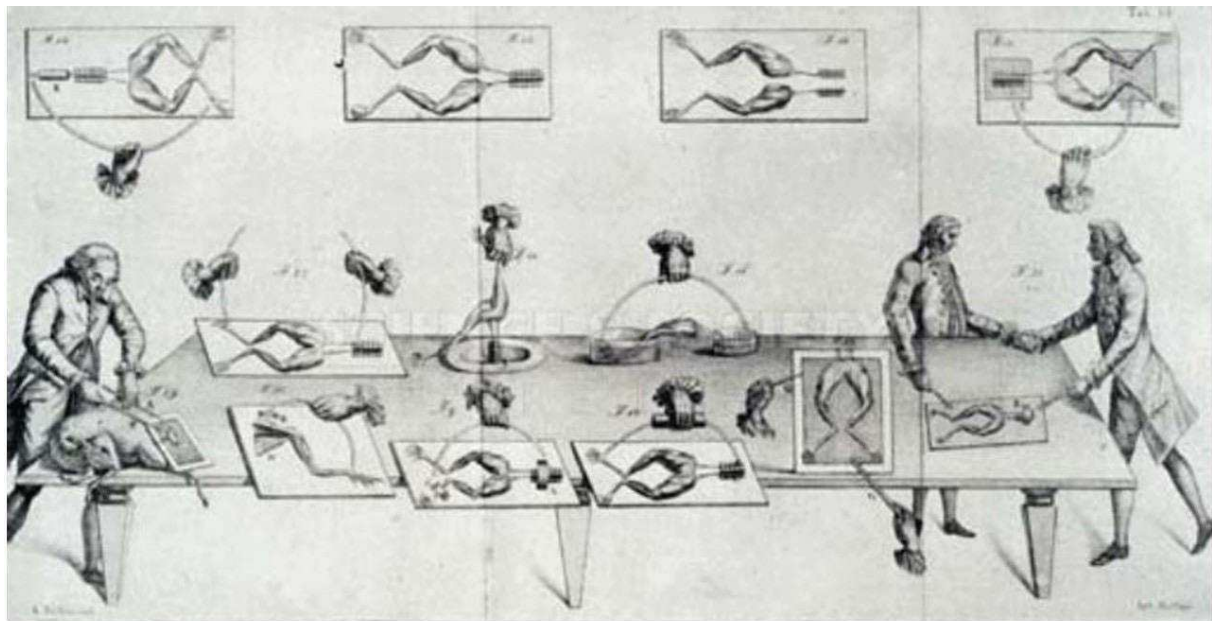


Figure 1. Illustration des travaux expérimentaux de Galvani sur les réactions des pattes de grenouilles soumises à une stimulation électrique. D'après *De Viribus - Electricitatis in Motu Musculari* (1791),

Suite aux travaux d'Hans Oersted, physicien danois, sur les phénomènes électromagnétiques, Michael Faraday, physicien britannique, relance une nouvelle ère pour l'électrothérapie avec la découverte en 1831 de l'induction électromagnétique qui aboutit à la conception des premiers moteurs électriques. Suite à cela, Guillaume Duchenne de Boulogne, médecin français, est le premier à utiliser l'électricité comme instrument d'investigation physiologique, et parvient à individualiser chacun des muscles du visage ainsi que leur contribution à l'expression faciale (Figure 2).

Au début du XXème siècle, Louis Lapicque, médecin français, définit l'excitabilité musculaire par une constante de temps conventionnelle qu'il appelle « chronaxie », correspondant à la durée de passage du courant nécessaire pour atteindre le seuil de l'excitation avec une intensité égale au double de la « rhéobase ». Ces termes seront définis plus loin dans le manuscrit. En 1952, Paul Zoll, cardiologue américain, met au point la première utilisation d'un pacemaker chez l'homme, seulement pour une courte durée. Cette avancée permet à l'électrostimulation d'occuper une place croissante dans le domaine médical. En 1961, Wladimir Théodore Liberson met au point une orthèse permettant de faciliter la marche des

hémiparétiques grâce à une stimulation électrique du nerf fibulaire commun (pendant la phase oscillante du pas) sous le talon. Puis, en 1967, la première application clinique de la neurostimulation transcutanée (TENS « transcutaneous electrical nerve stimulation ») fut publiée par Wall et Swett, permettant de réduire la douleur par la stimulation électrique des fibres de gros diamètres des nerfs périphériques (Wall et Sweet 1967).



Figure 2. Duchenne de Boulogne, réalisant des expériences sur différentes expressions faciales déclenchées par des stimulations électriques. *D'après Mécanisme de la physionomie humaine (1872).*

En 1971, le russe Yakov Kots est le premier à utiliser l'électrostimulation dans le but d'augmenter la force musculaire chez le sportif de haut niveau. En effet, il met au point un protocole d'entraînement en électrostimulation d'une durée de 19 jours sur les muscles triceps sural et biceps brachial et affirme que les contractions induites électriquement produisent une force isométrique 10 à 30% supérieure à celle des contractions volontaires maximales (Kots 1971). De plus, il affirme que les programmes d'électrostimulation induisent des gains de force de 30 à 40% chez les athlètes très entraînés. Bien que mal documentée et décrite, la technique russe, qui impliquait un signal sinusoïdal de 1500 à 2500 Hz modulé à 50 Hz, a été appliquée par d'autres chercheurs et les résultats spectaculaires présentés par Kots n'ont jamais été reproduits. Néanmoins, les affirmations de Kots ont suscité un regain d'intérêt pour l'utilisation de l'électrostimulation pour des applications cliniques et sportives. Pour mieux comprendre l'utilisation de cette technique qui peut améliorer la performance, nous allons ainsi décrire dans la partie suivante les principes de l'électrostimulation.

2. Principes de l'électrostimulation

2.1. Définition

L'électrostimulation est une technique qui consiste à produire une contraction musculaire en délivrant au muscle un courant électrique via des électrodes transcutanées apposées sur le ventre musculaire (Vanderthommen et Crielaard 2001). Cette technique peut également s'appliquer par une stimulation délivrée au niveau du nerf (Lagerquist et al. 2009; Neyroud et al. 2019). Cependant, la plupart des travaux réalisés jusqu'à présent sur l'électrostimulation ont utilisé une stimulation délivrée au niveau du muscle, alors que la stimulation nerveuse (neurostimulation) est surtout utilisée comme un moyen permettant d'évaluer le système neuromusculaire (Millet et al. 2011). Lors de l'application de l'électrostimulation, qu'elle soit sur le ventre musculaire ou sur le nerf, le courant électrique stimule les terminaisons axonales des nerfs moteurs périphériques. Le seuil d'excitabilité des axones étant nettement inférieur à celui des cellules musculaires, le courant électrique entraîne la dépolarisation des branches axonales terminales et non des fibres musculaires elles-mêmes (Hultman et al. 1983).

Avant d'explorer les mécanismes physiologiques impliqués dans les contractions induites par électrostimulation, nous allons présenter les paramètres de stimulation d'un protocole utilisé dans le domaine sportif et/ou clinique tels que les différents courants existants, la durée d'impulsion, l'intensité de stimulation, la fréquence de stimulation et le cycle de travail.

2.2. Courants

La société américaine de kinésithérapie a établi une classification des courants électriques utilisés dans le domaine clinique (Kloth et Cummings 1991). Ainsi, trois types de courant ont été classés : le courant galvanique (continu), le courant alternatif et le courant par impulsion.

- Le courant continu ou galvanique, diffuse toujours de la cathode vers l'anode, avec un flux constant d'électrons se dirigeant toujours dans le même sens. Il est utilisé pour ses effets antalgiques, notamment avec la technique d'ionophorèse consistant à faire pénétrer des médicaments à travers la barrière de la peau (Roques 1997). L'inconvénient majeur de ce type de courant était de polariser la peau et les tissus plus profonds provoquant ainsi un risque de brûlure.

De façon à contrecarrer cela, les courants alternatifs ont ensuite fait leur apparition. Ils se déclinaient en deux types :

- Le courant alternatif interférentiel ou “interference-modulated current” qui consiste à utiliser deux générateurs produisant des signaux de fréquence élevée, l’un à une fréquence constante (4000 Hz), et le second à une fréquence légèrement différente (3900 ou 4100 Hz) (Lake 1992). Ce type de courant permet de faire pénétrer les signaux à haute fréquence plus facilement en profondeur des tissus et semble être mieux toléré.

- Le courant alternatif modulé en fréquence ou “burst-modulated alternating current” qui a été inventé par le russe Yakov Kots. Ce courant est généralement constitué par un courant alternatif sinusoïdal de 2500 Hz modulé en 50 Hz donnant naissance à des salves de courant de 10 ms séparées par des intervalles de 10 ms (Oliveira et al. 2018).

Enfin, le troisième type de courant est le courant par impulsions, il est constitué d’impulsions électriques uniques ou répétées, dans un sens unidirectionnel ou bidirectionnel.

- Les impulsions unidirectionnelles (ou monophasiques) sont des impulsions dont la polarité est soit positive, soit négative.

- Les impulsions bidirectionnelles (ou biphasiques) sont composées de deux impulsions de polarité inverse. Elles peuvent être symétriques ou asymétriques, tout en conservant une moyenne nulle afin d’éviter les réactions électrochimiques cutanées (Bisschop et al, 1999).

Les courants les plus utilisés dans les domaines sportifs et cliniques sont principalement des courants d’impulsions biphasiques symétriques, tandis que les courants monophasiques sont utilisés lors de l’application de la neurostimulation (i.e évaluation du système neuromusculaire). Les caractéristiques d’un courant d’impulsion biphasique symétrique (durée d’impulsion, intensité et fréquence) sont résumées à la figure 3.

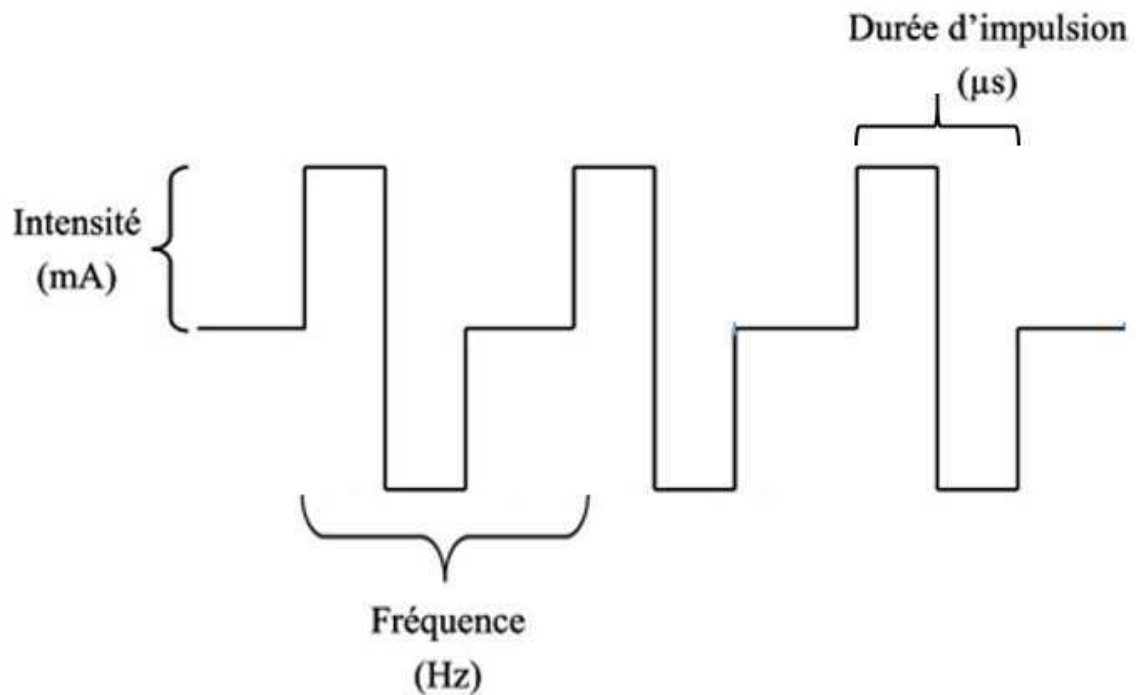


Figure 3. Principaux paramètres de stimulation d'un courant à impulsions biphasiques symétriques rectangulaires (intensité, fréquence, durée d'impulsion).

2.3. Durée d'impulsion

En 1901, Weiss décrit la relation exponentielle inverse entre la durée et l'intensité minimale du stimulus électrique nécessaire pour stimuler les axones et créer un potentiel d'action qui déclenchera la contraction musculaire. Cela permet en 1909, à Lapicque de définir un seuil d'intensité appelé « rhéobase », et un seuil de durée d'impulsion appelé « chronaxie ». La rhéobase correspond à l'intensité minimale du courant électrique nécessaire pour provoquer une contraction musculaire, tandis que la chronaxie correspond à la durée minimale pendant laquelle doit être appliquée une intensité double de la rhéobase pour déclencher un potentiel d'action. Ainsi, une courte durée de stimulation nécessite une haute intensité de stimulation pour provoquer une réponse des éléments excitable. A l'inverse, lorsque la durée de stimulation est plus longue, celle-ci nécessite une plus faible intensité pour une même réponse. Ainsi, comme les terminaisons nerveuses sont plus excitable que les cellules musculaires (Hultman et al. 1983), l'intensité nécessaire pour induire une contraction musculaire est moindre au niveau du nerf comparée au muscle (Figure 4). Selon Bowman et Baker, les impulsions de 300 à 400 μs sont plus efficaces que celles de très courtes durées (50 à 300 μs)

dans l'optique de produire une force importante sur le muscle quadriceps (Bowman et Baker 1985). Ainsi, la durée d'impulsion peut varier en fonction du groupe musculaire sollicité (Alon et al. 1983). Jusqu'à présent les protocoles d'électrostimulation ont principalement utilisé une largeur d'impulsion comprise entre 200 et 400 μs (Vanderthommen et Crielaard 2001).

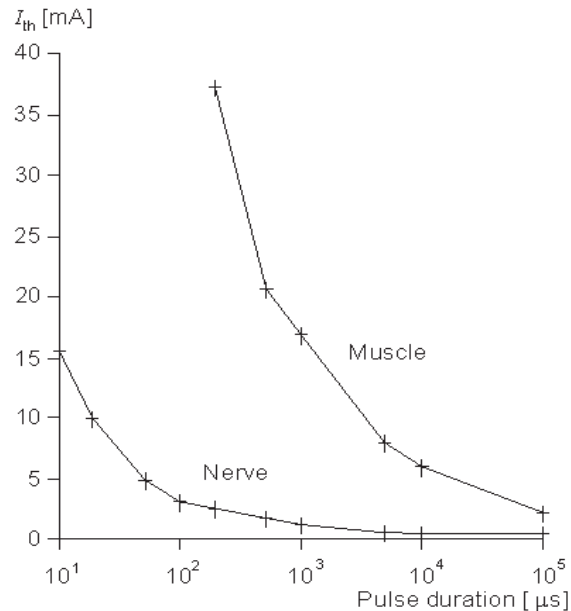


Figure 4. Relation intensité (mA) en fonction de la durée (μs) pour une stimulation délivrée sur le muscle et sur le nerf. D'après (Mortimer, 1981).

2.4. Intensité

L'intensité du courant ou amplitude de l'impulsion électrique s'exprime en milliampère (mA). En fonction de cette intensité, on répertorie différentes méthodes de stimulation :

- La stimulation inférieure au seuil sensitif est appelée stimulation par micro-courants (« microcurrent electrical stimulation »). Elle est principalement utilisée dans le domaine clinique notamment pour la cicatrisation des tendons après une blessure (Poltawski et Watson 2009)

- La stimulation délivrée à des intensités comprises entre le seuil sensitif et le seuil moteur est appelée stimulation nerveuse transcutanée (TENS). Elle est utilisée dans le domaine clinique pour ses effets antalgiques qui seraient attribués à la sécrétion d'endorphines provoquée par la

stimulation des fibres nerveuses afférentes de la douleur. Cette stimulation entraîne des sensations de stimulation sans contraction musculaire.

- La stimulation à une intensité supérieure au seuil moteur permet de produire des contractions musculaires. L'augmentation de l'intensité de stimulation permet de recruter plus d'unités motrices (UM) (Adams et al. 1993; Gorgey et al. 2006), et ainsi d'augmenter la force développée au cours des contractions (Binder-Macleod et Snyder-Mackler 1993). En effet, il existe une relation linéaire entre la force évoquée et l'intensité de stimulation (Ferguson et al. 1989; Underwood et al. 1990) (Figure 5). Jusqu'à présent les intensités maximales tolérées sont principalement utilisées dans le but d'améliorer la force musculaire (Lake 1992). Néanmoins, il existe d'importantes variations interindividuelles et intra-individuelles concernant le seuil de tolérance à la douleur. De ce fait, en fonction de l'intensité de stimulation tolérée par les sujets, la force développée sera variable.

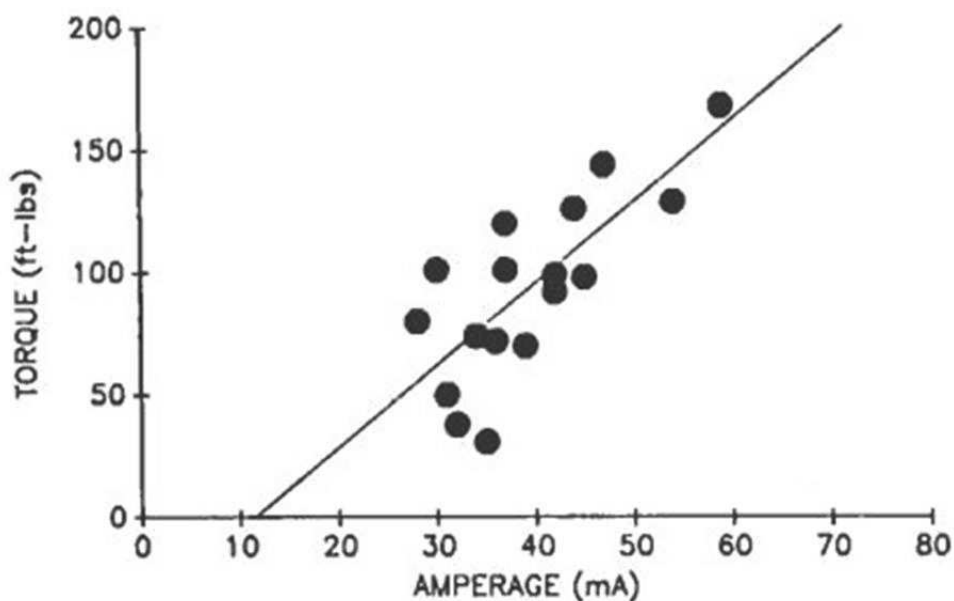


Figure 5. Relation force développée en fonction de l'intensité de stimulation. D'après Underwood et al, 1990.

2.5. Fréquence

La fréquence de stimulation correspond au nombre d'impulsions générées par seconde, elle s'exprime en Hertz (Hz). La fréquence de stimulation a un rôle important au niveau de l'amplitude de la réponse mécanique (Portmann 1991). En effet, lorsqu'un muscle est activé par une simple stimulation électrique maximale de son nerf moteur, on observe une réponse mécanique appelée communément secousse musculaire (ou twitch). Néanmoins, la force produite lors d'une secousse maximale ne représente que 10 à 20 % de la force maximale du muscle (Allman et Rice 2004). Ainsi, en stimulant le muscle de façon répétitive, les secousses vont fusionner entre elles de façon à atteindre un tétanos (Figure 6). La plage de fréquence sur laquelle la force peut être modulée est déterminée par la relation force-fréquence du muscle et est comprise dans une plage d'environ 15 Hz. La fréquence de fusion à laquelle la force devient lisse et régulière est d'environ 50 Hz (Jaeger et al. 1989). La nature synchrone de la décharge des UM pendant l'application de protocole d'électrostimulation nécessite l'utilisation de fréquences de stimulation plus élevées que celles observées lors de contractions volontaires d'amplitude similaire.

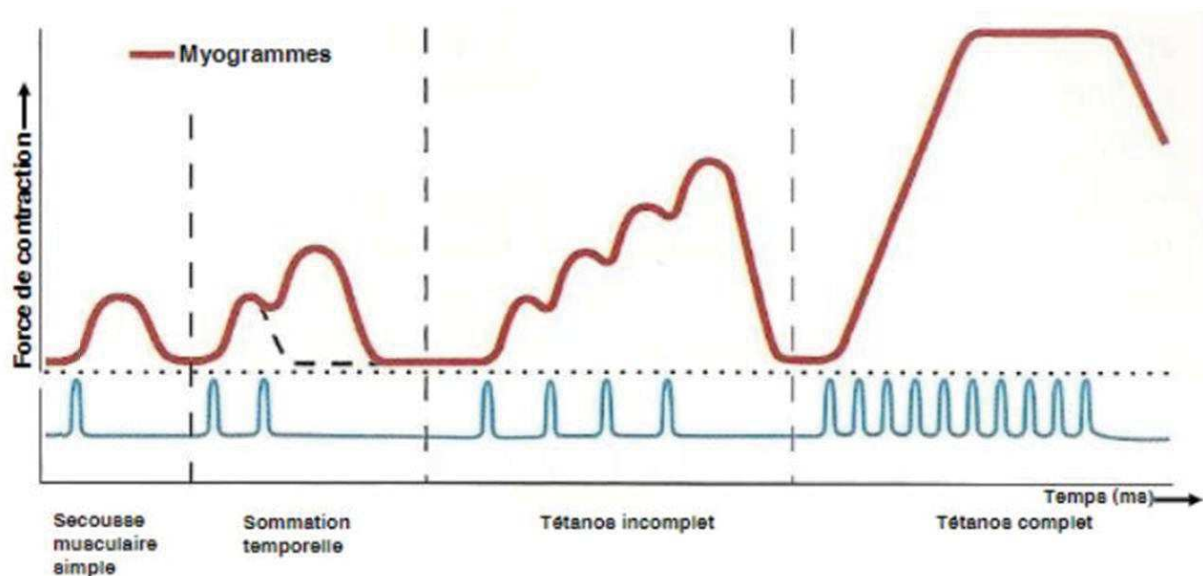


Figure 6. Réponse mécanique du muscle à des stimuli électriques à différentes fréquences de stimulation. D'après (Tortora et Derrickson 2009).

Jusqu'à présent, dans le but d'augmenter la force musculaire, les hautes fréquences de stimulation (> 80 Hz) sont utilisées dans les protocoles d'entraînement pour les sportifs, tandis que les basses fréquences de stimulation (15 à 40 Hz) sont davantage utilisées dans le domaine

clinique (Collins 2007). Plusieurs auteurs (Binder-Macleod et al. 1995; Lieber et Kelly 1993; Matsunaga et al. 1999) ont montré que l'augmentation de la fréquence de stimulation entraînait une diminution de la force plus importante pendant les trains de stimulation comparativement aux basses fréquences, qui pourrait être attribuée à de la fatigue musculaire.

2.6. Cycle de travail

Un programme de stimulation est établi avec des phases de contraction « on-time » et des phases de repos « off-time » afin de minimiser la fatigue musculaire et l'inconfort engendrés. Le cycle de travail (« duty cycle ») est défini par le rapport entre le temps de stimulation et le temps total du cycle : $\text{on-time} / (\text{on-time} + \text{off-time})$ (Kloth et Cummings 1991). Par exemple, pour une durée de stimulation de 10 secondes et une période de repos de 30 secondes, on obtient un cycle de 25% (10 sec/40 sec). Les cycles de travail sont très variables selon les études, allant de 16% (Maffiuletti et al. 2002) à 50% (Doix et al. 2014). La fatigue musculaire est d'autant plus importante que le cycle de travail est élevé (Kelly et Lieber 1991).

Les paramètres classiques définis précédemment et dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau 1, sont principalement utilisés pour améliorer la force musculaire chez des sujets sains, ils sont également efficaces pour préserver ou augmenter la masse musculaire lors d'une utilisation clinique (Maffiuletti 2010).

Domaine d'application	Fréquence de stimulation	Largeurs d'impulsions	Intensité de stimulation	Cycle de travail
Entraînement	Hautes (>80 Hz)	Petites (200 à 400 μ s)	Hautes (maximale tolérée par les sujets)	15 à 50%
Clinique	Basses (15 – 40 Hz)			

Tableau 1. Récapitulatif des caractéristiques des protocoles classiquement utilisés en électrostimulation.

La force évoquée par électrostimulation ne dépend pas seulement de ces facteurs externes contrôlables mais également du mode de recrutement des UM. En effet, le recrutement des UM étant différent de celui observé lors de contractions volontaires, il induit une sollicitation particulière du système neuromusculaire que nous allons détailler dans la partie suivante.

3. Bases physiologiques

3.1. Recrutement des UM

Lors d'une contraction volontaire, les UM d'un muscle sont recrutées selon un ordre bien précis, qui suit la « loi d'Henneman » (Henneman et al. 1965). Selon cette loi, appelée aussi "principe de taille", les UM ayant un faible diamètre axonal ont un seuil de recrutement bas (UM lentes et résistantes à la fatigue) et sont ainsi recrutées avant les UM ayant un plus gros diamètre axonal et donc un seuil plus élevé (UM rapides et non résistantes à la fatigue) (Figure 7).

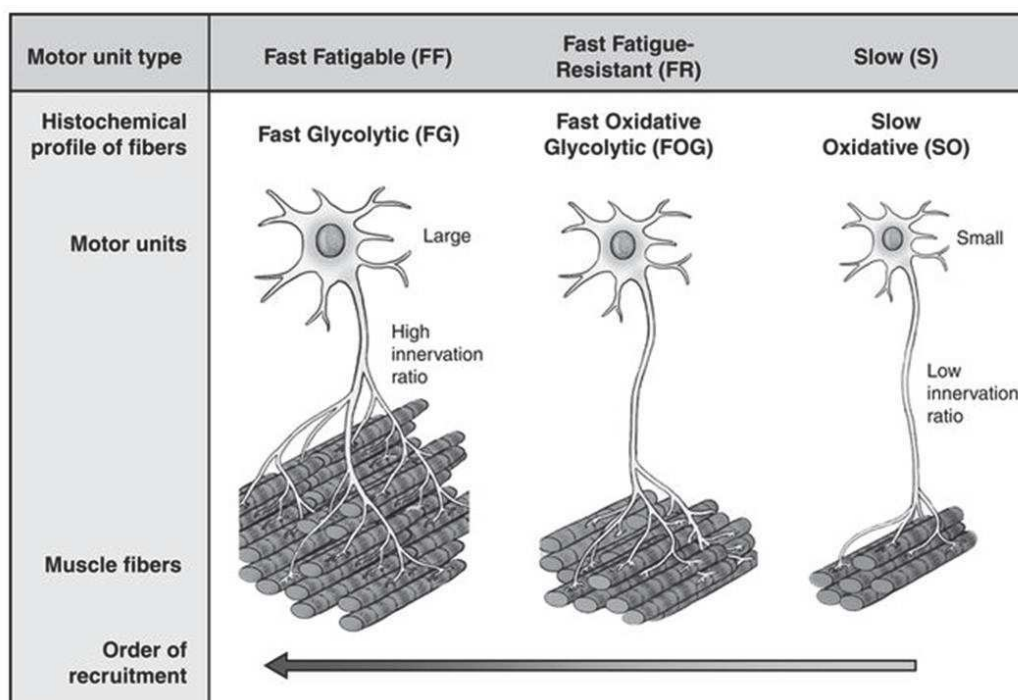


Figure 7. Ordre de recrutement physiologique des UM selon le principe de taille d'Henneman (1965), des UM lentes vers les rapides. Adapté de (Sieck et Mantilla 2009).

De plus, lors de contractions volontaires, le système nerveux central peut moduler la fréquence de décharge des UM et est capable de recruter de nouvelles UM non fatiguées afin d'augmenter la force développée ou bien de faire face à l'apparition de la fatigue (Adam and De Luca 2005). La fréquence de décharge des UM varie entre les muscles et entre les UM du même muscle, et elle dépend également du type de contraction. Généralement, lors des contractions volontaires isométriques, la fréquence moyenne de décharge des UM se situe entre 5 et 10 Hz pour des contractions de faible niveau de force, de 10 à 20 Hz pour des contractions

moyennes, et de 20 à 40 Hz ou plus lors de contractions maximales (Bigland-Ritchie et al. 1992). Pour cette dernière modalité, la fréquence de décharge est de 10 à 20 Hz pour le soléaire (Dalton et al. 2009), de 20 Hz pour les gastrocnémiens (Graham et al. 2016) et le quadriceps (Roos et al. 1999), et de 20 Hz à 40 Hz pour le tibial antérieur (Connelly et al. 1999). Enfin, lors de contractions soutenues et afin de faire face à l'apparition de la fatigue, une rotation des UM peut survenir. Ainsi, la rotation des UM peut permettre à des UM actives fatiguées d'être remplacées par des UM précédemment inactives (Bawa et al. 2006; Bawa et Murnaghan 2009). En résumé, le mode de recrutement des UM lors de contractions volontaires est défini comme étant sélectif (selon le principe de taille), asynchrone (modulation de la fréquence de décharge des UM) et spatialement non fixe (rotation des UM).

Le recrutement des UM au cours de contractions induites électriquement est différent de celui observé lors de contractions volontaires. Concernant l'ordre de recrutement des UM, on a longtemps pensé que le mode de recrutement était inverse de celui observé lors de contractions volontaires. En effet, le recrutement préférentiel des UM rapides repose sur le fait que les axones de gros diamètre soient localisés à la surface des muscles, étant ainsi situés plus près des électrodes de stimulation (Knight et Kamen 2005). De plus, comme la relation inverse entre le diamètre des axones et leur résistance électrique (Eccles et al. 1958) montre que les axones de grand diamètre ont une résistance inférieure à celui des axones de plus petit diamètre (Enoka 2002), ils seraient plus facilement excitables. Cela pouvait laisser penser à un inversement de l'ordre de recrutement des UM. Néanmoins, comme les protocoles d'électrostimulation sont appliqués sur la surface musculaire, le diamètre des axones et la distance qui les sépare des électrodes de stimulation influencent leur recrutement. Par conséquent, les axones de petit diamètre proches de l'électrode peuvent se dépolariser avec des intensités de stimulation plus faibles que les axones de plus grands diamètres éloignés des électrodes de stimulation (Grill et Mortimer 1995), ce qui entraîne un ordre de recrutement aléatoire des UM. Ce recrutement aléatoire des UM a également été rapporté par des travaux utilisant la technique de l'imagerie par résonance magnétique (Adams et al. 1993). Ils ont démontré que les contractions induites par électrostimulation pouvaient recruter des fibres musculaires en profondeur dans le muscle, même à des bas niveaux de force (Adams et al. 1993).

De plus, lors de contractions induites électriquement, le recrutement des UM se fait de manière synchrone, c'est-à-dire que la fréquence de décharge imposée ne peut être modulée contrairement aux contractions volontaires et est spatialement fixe, indiquant que le recrutement des UM se fait de manière continue sans rotation possible des UM.

En plus de ce mode de recrutement des UM différent en électrostimulation par rapport à la contraction volontaire, les contractions électriquement induites peuvent être générées par un recrutement direct ou indirect des UM. La plupart des protocoles classiquement utilisés en électrostimulation (hautes intensités de stimulation et faibles largeurs d'impulsions) induisent préférentiellement un recrutement direct des UM (Bergquist et al. 2011a, 2012; Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009). En effet, le recrutement direct consiste à la dépolarisation des axones moteurs, par la propagation de potentiels d'action allant du site de stimulation jusqu'au muscle, sans implication du système nerveux central. A l'inverse, le recrutement indirect consiste en la dépolarisation des afférences sensorielles induisant une contraction par l'activation synaptique des motoneurones alpha (Collins et al. 2001, 2002). Le recrutement indirect des UM par les "boucles réflexes" se rapprocherait ainsi du recrutement observé lors des contractions volontaires.

Une technique d'évaluation du recrutement initial des UM (direct vs indirect) a été mise au point au sein du laboratoire INSERM U1093. Elle consiste à délivrer une secousse à l'intensité de stimulation avant et après un train de stimulation (Doix et al. 2014; Martin et al. 2016; Matkowski et al. 2015; Papaiordanidou et al. 2014). Ainsi, le recrutement indirect des UM est représenté par la présence du réflexe H sur l'enregistrement de l'activité électromyographique (EMG) indiquant l'activation des afférences sensorielles, tandis que le recrutement direct des UM se traduit par la présence de l'onde M sur l'activité EMG, mettant en évidence l'activation des axones moteurs (Figure 8).

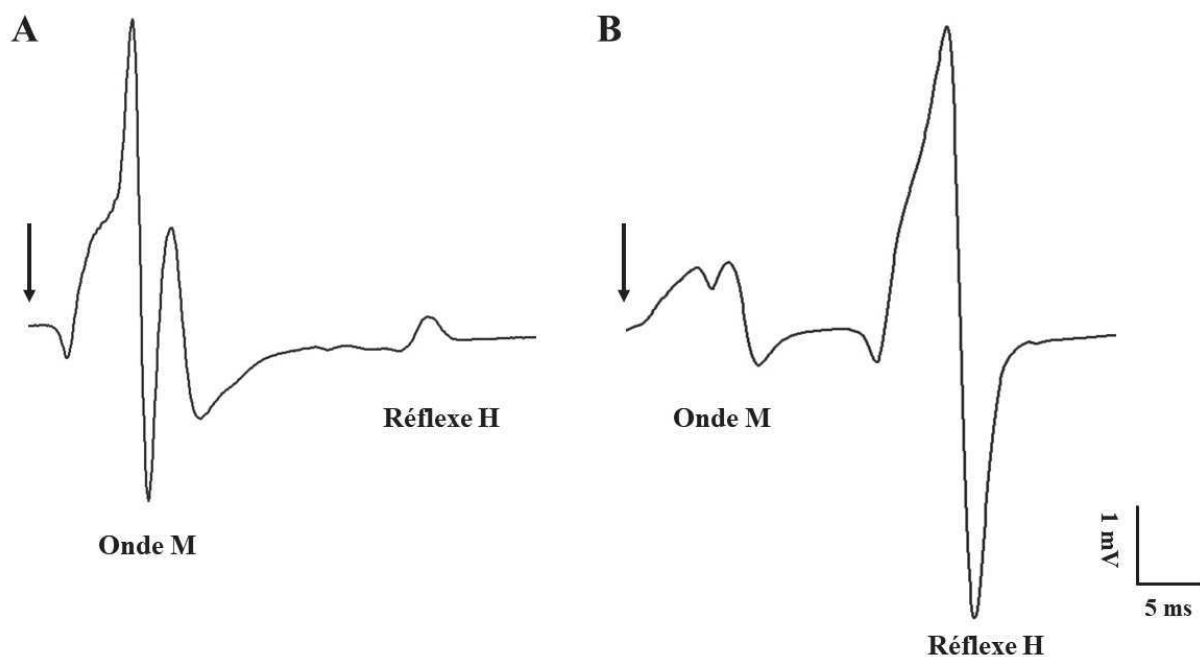


Figure 8. Exemple de 2 stimulations délivrées à l'intensité de stimulation, indiquant un recrutement direct des UM, identifié par une onde M supérieure au réflexe H (A) et un recrutement indirect des UM, identifié par un réflexe H supérieur à l'onde M (B). La flèche indique la stimulation. *Données personnelles*

Cette méthode possède l'avantage par rapport aux études précédentes (Bergquist et al. 2011b; Klakowicz et al. 2006) d'identifier la contribution du réflexe H et de l'onde M avant un train de stimulation, malgré le fait que le recrutement observé lors d'une simple secousse ne représente pas le recrutement au cours d'un train de stimulation, où il y a une sommation des réponses mécaniques et électrophysiologiques.

En résumé, le recrutement des UM est différent en électrostimulation en comparaison des contractions volontaires (Gregory et Bickel 2005). Ce mode de recrutement particulier des UM en électrostimulation a pour conséquence d'entraîner une sollicitation métabolique particulière. C'est ce que nous allons détailler dans la partie suivante.

3.2. Sollicitation métabolique

La sollicitation métabolique peut être évaluée par différentes méthodes. Lors d'études ayant utilisé la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, une diminution du pH intramusculaire et un rapport phosphate inorganique/phosphocréatine plus élevé ont été observés lors de contractions induites électriquement comparativement à des contractions volontaires pour un même niveau de force (20% de la CMV) (Vanderthommen et al. 1999, 2003). De plus, pour un exercice réalisé à un même pourcentage de la consommation maximale d'oxygène, une concentration de lactate et un quotient respiratoire plus importants ont été observés lors de contractions électro-induites par rapport aux contractions volontaires (Hamada et al. 2004) (Figure 9). Ces mesures nous montrent que cette technique sollicite davantage le métabolisme anaérobie par rapport au mode volontaire.

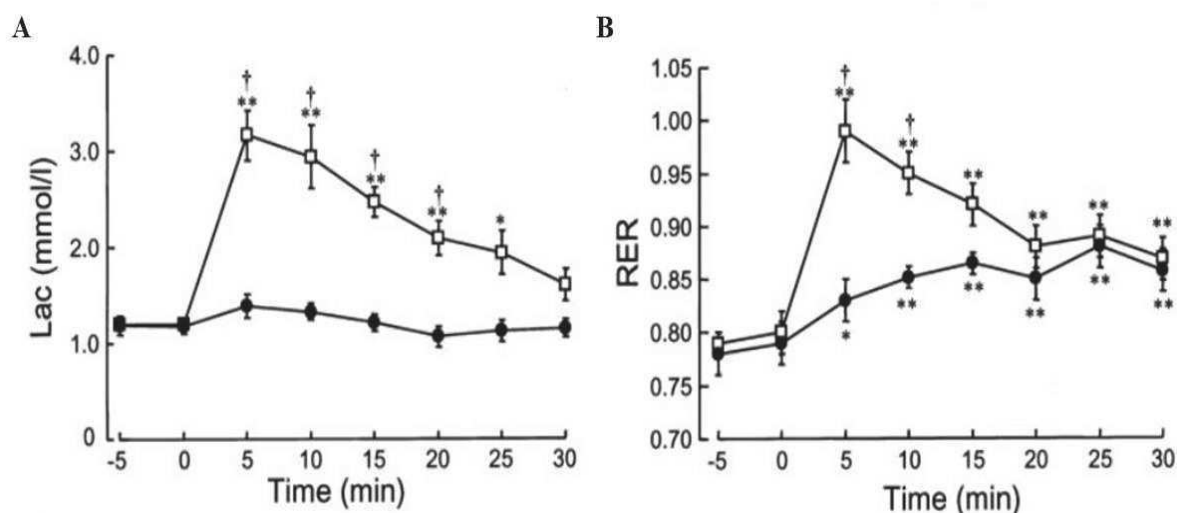


Figure 9. Comparaison de la concentration en lactate sanguin (A) et du quotient respiratoire (RER) (B) au cours du temps entre des contractions volontaires et des contractions induites par électrostimulation. **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$, significativement différent de pre test (0 min). †, $P < 0.05$, significativement différent de l'exercice volontaire. D'après (Hamada et al. 2004)

Une autre étude a comparé les réponses physiologiques induites pendant des contractions volontaires et des contractions évoquées électriquement pour le même niveau de force (Theurel et al. 2007). Les auteurs ont démontré que les réponses physiologiques (consommation d'oxygène, ventilation et quotient respiratoire) au cours des contractions induites par

électrostimulation étaient plus importantes que celles obtenues lors des contractions volontaires (Figure 10).

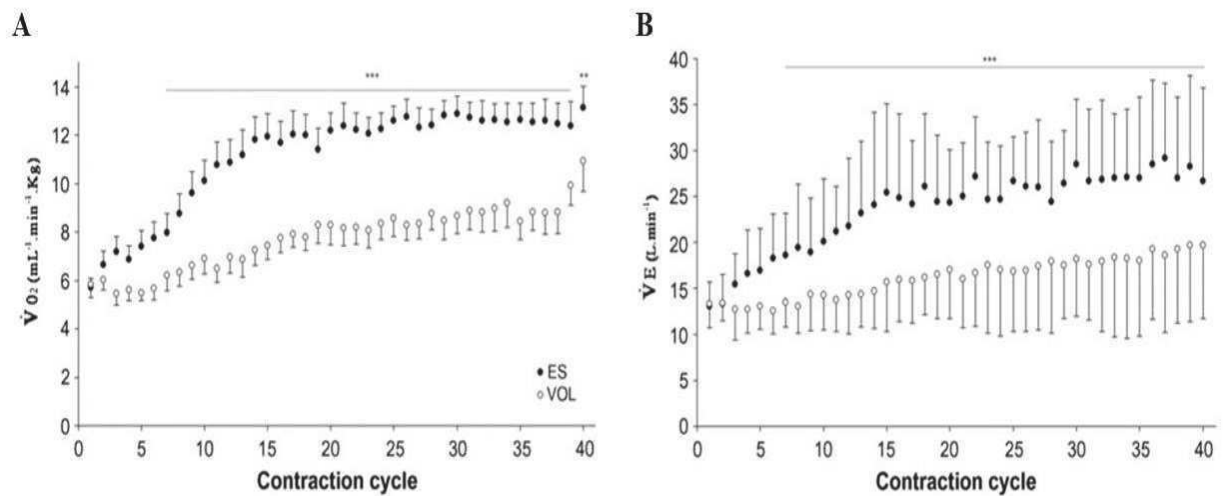


Figure 10. Comparaison de la consommation en oxygène (A) et de la ventilation (B) au cours du temps entre des contractions volontaires et des contractions induites par électrostimulation. D'après (Theurel et al. 2007).

L'étude de Theurel et ses collègues a montré une sollicitation métabolique plus importante au cours d'une session d'électrostimulation par rapport à des contractions volontaires (Theurel et al. 2007), attribuée à la spécificité du mode d'activation des UM (Vanderthommen et Crielaard 2001). Ces réponses physiologiques ont eu pour conséquence d'engendrer une perte de force développée au cours d'une CMV plus importante après des contractions induites électriquement (environ 21%) par rapport aux contractions volontaires, malgré un même niveau de force cible entre les deux conditions. Ce dernier résultat démontre que l'électrostimulation provoque une fatigue neuromusculaire plus importante par rapport aux contractions volontaires.

4. Fatigue

La fatigue est très complexe à définir, d'une part par la difficulté à trouver un consensus quant au sens exact qu'elle peut prendre en fonction de l'interprétation de chacun, et d'autre part par une impossibilité de définir avec exactitude les mécanismes physiologiques impliqués. Plusieurs définitions ont été données et ont évolué au fur et à mesure des années. Initialement, le terme de fatigue fût défini comme étant « l'impossibilité de maintenir une force requise »

(Edwards, 1981). Nous retiendrons pour ce travail de thèse celle de Gandevia définissant la fatigue comme étant « une diminution de la force lors d'une contraction maximale volontaire (CMV) » (Gandevia 2001), réalisée avant et après un exercice fatigant (Hunter et al. 2004; Taylor et al. 1996). Cependant, la simple définition de ce terme ne permet pas de comprendre l'origine des phénomènes liés à l'altération de la force lors d'une CMV. La capacité d'un individu à produire une force peut en effet être altérée à de nombreux sites le long de la chaîne de la commande et de la contraction musculaire (Bigland Ritchie 1981). Toutes les étapes de la production de force, depuis la naissance de la commande nerveuse au niveau des structures corticales jusqu'à l'activité des protéines contractiles, peuvent être affectées par la fatigue (Bigland Ritchie 1981), donnant lieu à un total de dix sites potentiels pouvant être à l'origine d'une éventuelle fatigue neuromusculaire (Enoka 2008, Figure 11). Parmi ces sites, un paramètre déterminant de la fatigue, le retour afférent, mécanique ou métabolique, rend un peu plus complexe la dissociation physiologique entre la fatigue nerveuse et la fatigue musculaire. La fatigue neuromusculaire est classée comme étant d'origine nerveuse ou musculaire, selon si elle est située respectivement en amont ou en aval de la jonction neuromusculaire. Selon les définitions proposées par Gandevia, la fatigue nerveuse est définie comme étant « une réduction progressive de l'activation volontaire du muscle pendant l'exercice » et la fatigue musculaire comme étant « une diminution de la force contractile des fibres et des mécanismes de transmission des potentiels d'action musculaires » (Gandevia 2001).

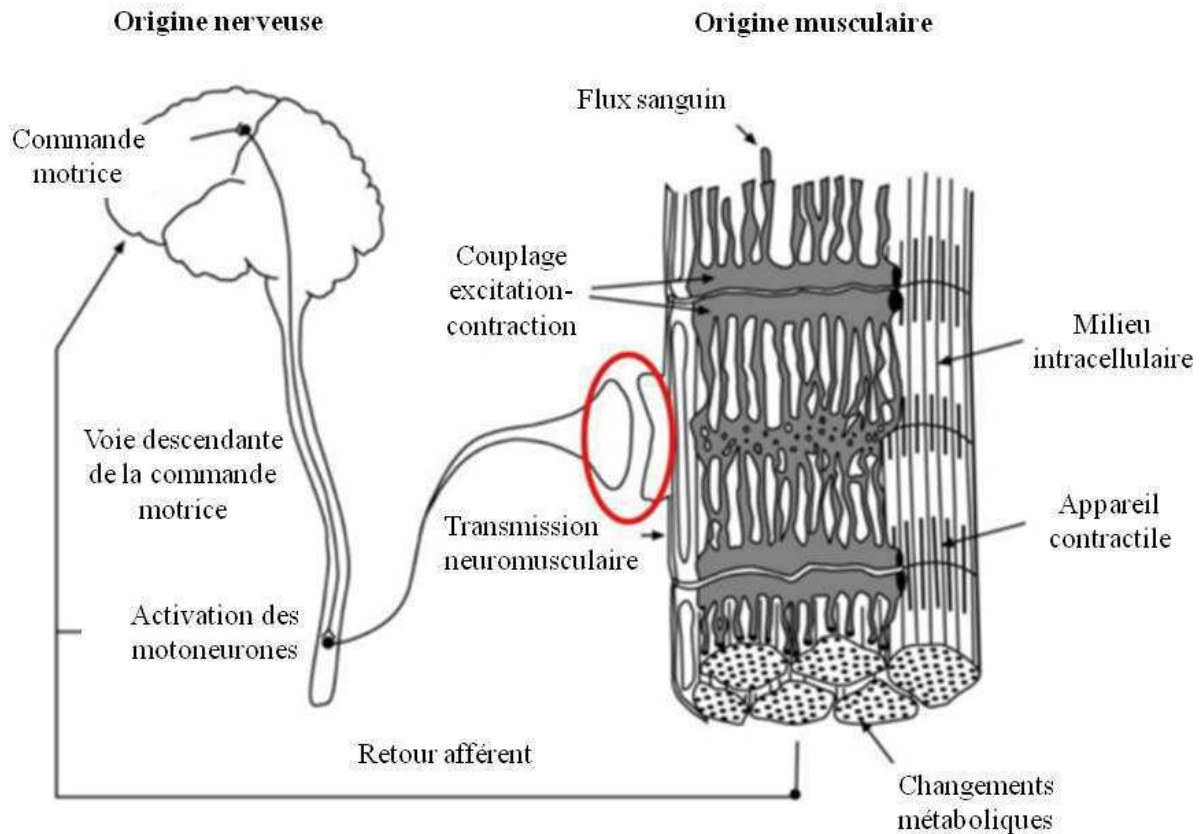


Figure 11. Représentation schématique des origines nerveuses et musculaires de la fatigue neuromusculaire, définies par leur situation en amont (origines nerveuses) ou en aval (origines musculaires) de la jonction neuromusculaire (entourée en rouge). *Adapté de (Enoka 2008).*

De plus, plusieurs études ont évalué les origines de la fatigue après différents protocoles de stimulation. Par exemple, un protocole d'électrostimulation appliqué sur le triceps sural utilisant des fréquences de stimulation élevées (75 Hz) et délivré à une intensité maximale tolérée a entraîné une diminution de la CMV de plus de 9% après 30 flexions plantaires évoquées électriquement (Boerio et al. 2005). Cette diminution de force était accompagnée d'altérations survenant au niveau nerveux et musculaire. Le même protocole d'électrostimulation délivré sur le quadriceps a entraîné une perte de CMV plus importante (près de 20%) (Zory et al. 2005). Néanmoins, elle était accompagnée uniquement par des modifications au niveau musculaire. Les différences entre les résultats de ces deux études pourraient notamment être expliquées par le fait que ces deux groupes musculaires (triceps sural et quadriceps) soient de nature et de fonction différentes, suggérant ainsi l'hypothèse d'une modulation des sites de la fatigue neuromusculaire en fonction des muscles étudiés. Une autre étude utilisant des basses fréquences de stimulation (30 Hz) et une intensité maximale tolérée

a montré une perte de CMV supérieure à 10% après 50 trains de stimulation s'expliquant par des changements survenant au niveau nerveux sans modification au niveau musculaire (Papaiordanidou et al. 2010). Ces résultats montrent que les protocoles de hautes (Boerio et al. 2005; Zory et al. 2005) ou de basses fréquences de stimulation (Papaiordanidou et al. 2010) induisent une fatigue pouvant être d'origine nerveuse et/ou musculaire.

En résumé, contrairement aux contractions volontaires où les UM sont recrutées selon le principe de taille d'Henneman (Henneman et al. 1965) avec les UM lentes résistantes à la fatigue recrutées en premier, l'électrostimulation entraîne un recrutement aléatoire des UM (Bickel et al. 2011; Gregory et Bickel 2005), synchrone et spatialement fixe. Ce recrutement des UM peut se faire par l'activation des axones moteurs (recrutement direct), et par l'activation des afférences sensorielles (recrutement indirect). Néanmoins, la plupart des protocoles classiquement utilisés induisent un recrutement direct des UM, entraînant des réponses physiologiques différentes de l'exercice volontaire. En effet, le recrutement particulier des UM lors de l'électrostimulation induit une sollicitation métabolique et une fatigue neuromusculaire plus importantes. Celle-ci peut être d'origine nerveuse et/ou musculaire.

5. Les méthodes utilisées pour réduire la fatigue par électrostimulation

Les recherches portant sur le domaine de la fatigue en électrostimulation sont nombreuses. En effet, la fatigue constitue un phénomène qu'il convient de minimiser afin de tirer profit des bénéfices induits par l'électrostimulation. Cela est encore plus essentiel lorsque cette technique est utilisée dans le domaine clinique sur un public déjà fragilisé. Ainsi, le fait de diminuer la fatigue induite par l'électrostimulation permettrait de réaliser des sessions plus longues qui seraient par conséquent plus efficaces.

Plusieurs modalités ont été testées afin de diminuer la fatigue induite par des contractions évoquées électriquement. L'une d'entre elles consiste à diminuer la fréquence de décharge des UM, en répartissant la fréquence de stimulation entre plusieurs électrodes, permettant ainsi à des UM différentes d'être recrutées à chaque site de stimulation. Cette approche vise à se rapprocher du mode asynchrone des UM se produisant lors de contractions volontaires (Nguyen et al. 2011). Par exemple, une fréquence de stimulation de 40 Hz peut être transmise à tout le muscle avec des fréquences de seulement 10 Hz à chaque électrode. Cette approche séquentielle

a montré son efficacité pour réduire la fatigue chez des personnes ayant une lésion médullaire (Nguyen et al. 2011), comme l'indique la baisse de l'index de fatigue (force finale développée normalisée par la force maximale pendant la stimulation).

Une autre approche similaire est l'électrostimulation alternative, induisant à tour de rôle des stimulations sur le ventre musculaire et sur le tronc nerveux (Lou et al. 2017). Ce type de protocole a été initialement développé pour les muscles fléchisseurs dorsaux de la cheville après avoir démontré que la stimulation sur le nerf péronier commun et sur le muscle tibial antérieur recrute différentes populations d'UM (Lou et al. 2017). Par conséquent, le même protocole a été délivré selon trois modalités différentes : sur le muscle, sur le nerf et sur les deux en alterné. La force moyenne évoquée durant ces modes d'application a diminué de 67% et 58% lors de l'application sur le muscle et le nerf respectivement, mais seulement de 38% lorsque la stimulation était alternée entre le muscle et le nerf. Cette technique permettrait de réduire théoriquement la fréquence de décharge de la plupart des UM et entraînerait donc une moindre fatigue que les protocoles appliqués sur le muscle ou sur le nerf (Lou et al. 2017).

Bien que ces approches soient prometteuses pour réduire la fatigue, chacune présente ses propres limites. Un inconvénient de toutes les techniques qui impliquent une stimulation sur le ventre musculaire est que l'intensité de stimulation doit être élevée pour recruter un maximum d'UM afin de générer des contractions importantes. Ces fortes intensités présentent l'inconvénient d'être douloureuses. Un autre inconvénient de ces deux méthodes est que leur efficacité pour réduire la fatigue dépend de l'activation de populations distinctes d'UM à chaque site de stimulation. Par conséquent, les électrodes de stimulation doivent être positionnées de manière à maximiser l'activation sélective des différents pools d'UM de chaque site (Wiest et al. 2016). Enfin, des contraintes supplémentaires à la mise en œuvre clinique de ces approches incluent le besoin de matériel et de logiciels pour contrôler indépendamment les différents canaux de stimulation et les difficultés potentielles à positionner de manière optimale chaque électrode.

Une autre approche pouvant faire face à l'apparition de la fatigue a été mise au point par Collins et son équipe. Elle consiste à délivrer une stimulation de manière à recruter les UM selon le principe de taille de Henneman. Ils ont suggéré d'utiliser des protocoles combinant des hautes fréquences de stimulation associées à de grandes largeurs d'impulsions et délivrées à de faibles intensités de stimulation, appelés Wide Pulse High Frequency (WPHF) (Collins et al.

2001, 2002). Les grandes largeurs d'impulsion permettent l'activation des axones sensoriels ayant une rhéobase plus faible par rapport aux axones moteurs (Kiernan et al. 2004; Veale et al. 1973), tandis que les faibles intensités de stimulation minimisent la collision antidromique des axones moteurs, permettant aux potentiels d'action de la moelle épinière d'atteindre les muscles (Bergquist et al. 2011b; Dean et al. 2007). Les hautes fréquences de stimulation envoient davantage d'impulsions le long des axones sensoriels, ce qui permet de dépolariser plus efficacement les motoneurones et d'accroître le retour afférent lors de contractions évoquées électriquement.

De plus, il a été montré que ces protocoles induisaient une augmentation de la force pour des mêmes conditions initiales de stimulation. Ce phénomène appelé extra force se caractérise par un surplus de force par rapport à ce que l'on pourrait attendre de la réponse de la stimulation directe des axones moteurs (Figure 12) (Collins et al. 2001, 2002). Il pourrait développer plus de 30% de la CMV pour des paramètres de stimulation initialement déterminés pour atteindre 5% (Collins et al. 2001, 2002). Ce phénomène d'extra force a été supprimé lors d'une anesthésie du nerf moteur (Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009), bloquant ainsi le retour afférent en direction de la moelle épinière (Figure 12) (Collins et al. 2001, 2002).

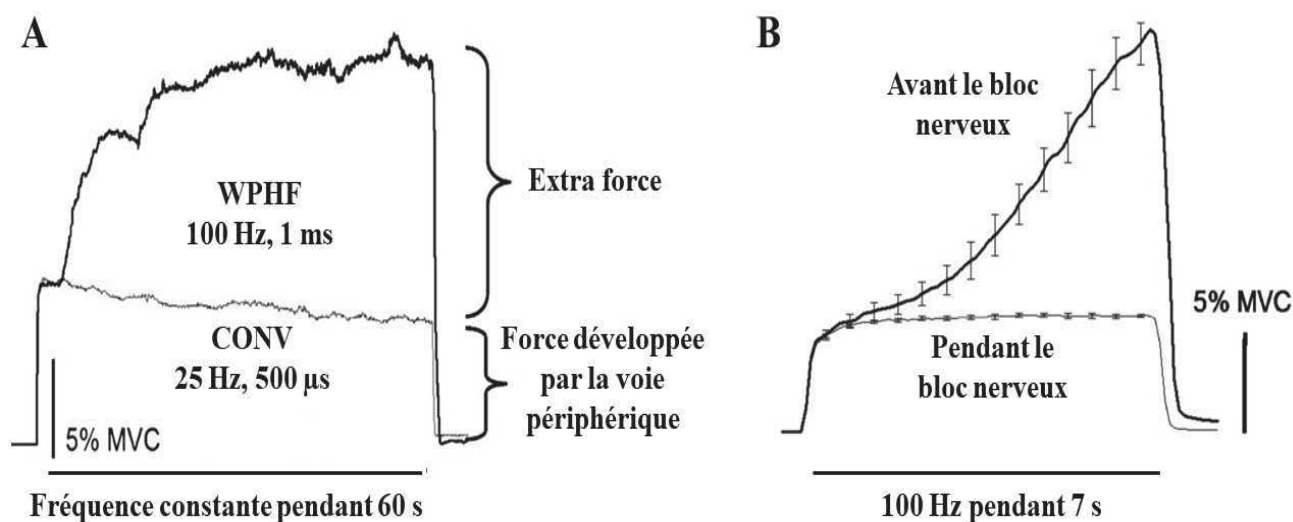


Figure 12. Force développée avec les paramètres de stimulation Wide Pulse High Frequency (WPHF) vs. Conventionnal (CONV) (A) et l'effet d'un bloc nerveux sur la production d'extra force (B). *Adapté de (Collins 2007).*

L'anesthésie du nerf empêche le recrutement des motoneurones via les afférences sensorielles, et démontre l'importance du recrutement indirect des UM, souvent appelée

contribution nerveuse, pour le développement de l'extra force. Pourtant, Frigon et ses collègues ont suggéré que le développement de l'extra force serait provoqué par des mécanismes intramusculaires (Frigon et al. 2011). Ainsi, selon cette étude, la production d'extra force serait inversement proportionnelle à la longueur du muscle, démontrant que ce phénomène était d'autant plus important lorsque la longueur du muscle était courte (Frigon et al. 2011).

La contribution nerveuse lors de contractions induites électriquement pourrait minimiser la fatigue musculaire. Cela a été mis en évidence par une étude qui s'est intéressée à la force développée par les muscles fléchisseurs plantaires pendant un train de stimulation de 30 secondes chez cinq sujets avant et pendant une anesthésie des nerfs tibial et péronier, selon l'application de trois protocoles différents (Lagerquist et al. 2009). Ainsi, lors de l'anesthésie du nerf, la force évoquée pouvait être produite uniquement à partir de l'activation directe des axones moteurs (i.e contribution musculaire dans le développement de la force évoquée), tandis que dans la condition intacte, la force évoquée pouvait provenir à la fois de la contribution nerveuse (recrutement indirect des UM) et musculaire (recrutement direct des UM). L'intégrale moment-temps mesurée entre le début et la fin du train de stimulation a augmenté en moyenne de 144% dans la condition intacte, tandis qu'elle a diminué en moyenne de 43% dans la condition où le nerf était anesthésié (Figure 13). Par conséquent, le fait de favoriser un recrutement indirect des UM via les afférences sensorielles induirait une moindre perte de force que lorsque les contractions étaient générées uniquement par l'activation directe des axones moteurs. Cette moindre perte de force était expliquée par le recrutement préférentiel d'UM résistantes à la fatigue selon le principe de taille de Henneman (Henneman et al. 1965), offrant ainsi un avantage potentiel du WPHF par rapport aux protocoles classiques pour une utilisation clinique.

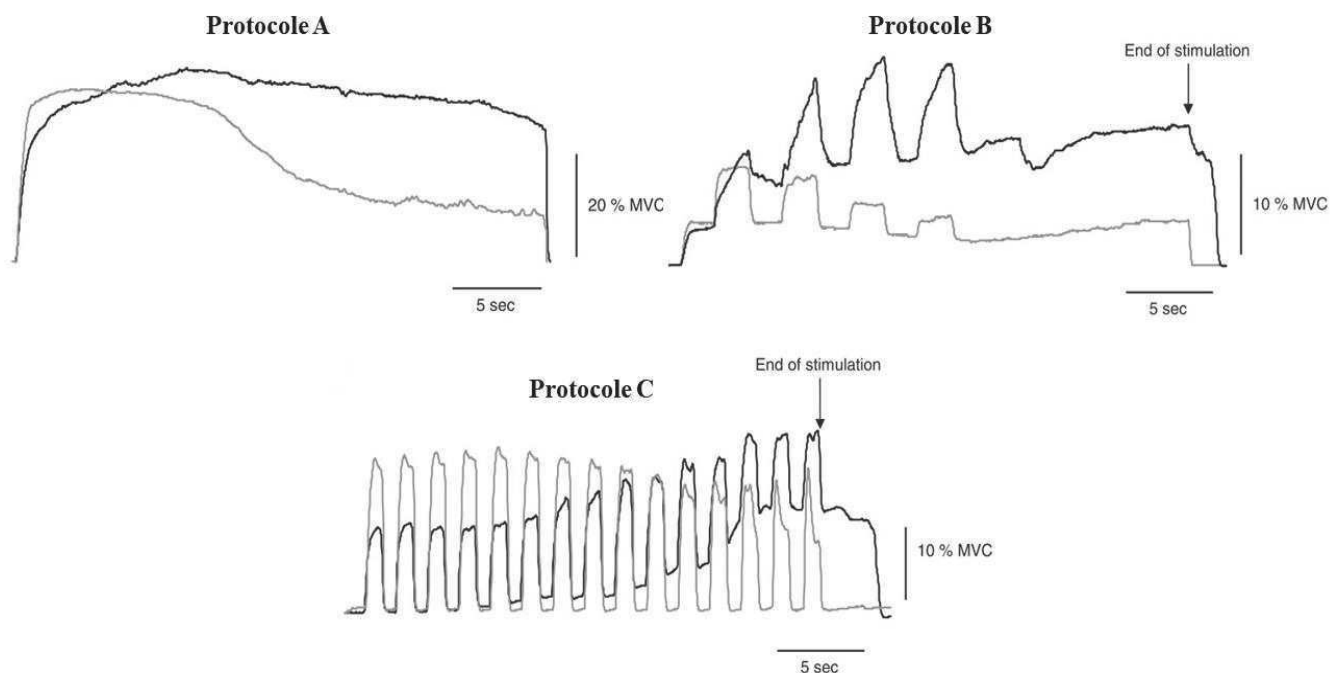


Figure 13. Tracés expérimentaux d'un sujet typique pour les 3 protocoles testés. Les tracés noirs correspondent à la force développée lors de la condition intacte, tandis que les tracés gris correspondent à la condition où le nerf était anesthésié. *Adapté de (Lagerquist et al. 2009).*

Cette contribution nerveuse peut être maximisée lors de l'application de la stimulation sur le nerf moteur. Ainsi, il a été montré que la stimulation nerveuse permet d'activer un nombre suffisant d'axones sensoriels via les « boucles réflexes », augmentant ainsi la contribution nerveuse à la production de force (Bergquist et al. 2011a). En effet, le recrutement indirect, mis en évidence par la présence de réflexe H sur l'enregistrement EMG était plus important lorsque la stimulation était délivrée sur le nerf tibial (Figure 14A et 14B), ou sur le nerf fémoral contrairement à la stimulation délivrée sur le muscle (Figure 14C et 14D) (Bergquist et al. 2011a, 2012; Klakowicz et al. 2006).

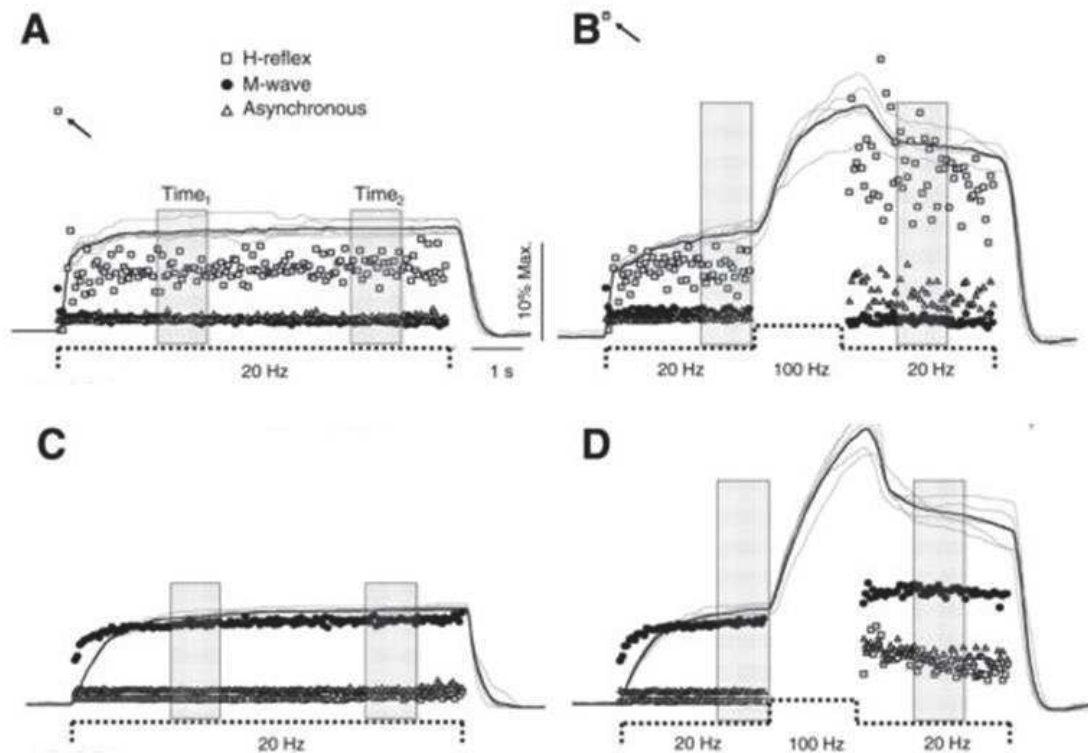


Figure 14. Stimulation au niveau du nerf tibial (A et B) vs stimulation sur le ventre musculaire (triceps sural, C et D) pour des paramètres de stimulation déterminés afin de développer 10% de la CMV. La présence du réflexe H (représenté par les carrés blanc) est plus importante au cours de la stimulation nerveuse. *Adapté de (Bergquist et al. 2011a)*

Malgré cela, la majorité des études ayant investigué la technique de l'électrostimulation a utilisé une stimulation sur le ventre musculaire, induisant des contractions générées principalement par un recrutement direct des UM. Ainsi, une récente étude comparant l'application de façon répétée de deux protocoles différents : classique (25 Hz, 50 μ s) et WPHF (100 Hz, 1 ms) avec une intensité déterminée afin de produire un niveau de force correspondant à 5% de la CMV, mais appliqués au niveau du muscle, a montré une diminution de la CMV similaire entre les deux protocoles (Neyroud et al. 2014). Cependant, une diminution plus importante de la force a été observée au cours des trains de stimulation pour le protocole WPHF, suggérant que ces protocoles seraient plus fatigants.

Des pertes de force plus importantes au cours de trains de stimulation répétés, et délivrés à de hautes fréquences sont souvent observées dans la littérature (Gorgey et al. 2009; Gregory et al. 2007). En effet, en comparant un protocole à 50 Hz et 20 Hz, il a été montré une diminution de la force évoquée plus importante au cours de 60 contractions évoquées électriquement par le protocole à 50 Hz (Gregory et al. 2007). De plus, une autre étude a montré que la diminution

de la fréquence de stimulation de 100 Hz à 25 Hz permettait de réduire les pertes de force de 76% à 39% entre la première et la dernière contraction, quelles que soient l'intensité et la largeur d'impulsion (Gorgey et al. 2009). Ces résultats laissent penser que les hautes fréquences de stimulation, ayant des coûts énergétiques plus élevés (Gregory et al. 2007; Russ et al. 2002), entraînent une plus grande perte de force musculaire au cours des trains de stimulation que les stimulations à basses fréquences et sont par conséquent considérés plus fatigants. Ces résultats contrastés entre la perte de force évaluée avant et après un protocole par la CMV, et la diminution de force au cours d'un protocole d'électrostimulation suggèrent que d'autres mécanismes que la fatigue des UM activées puissent être impliqués. Parmi les mécanismes susceptibles d'intervenir figurent les changements du seuil d'excitabilité des axones suite à une stimulation répétitive.

En effet, des études ont examiné l'ampleur et l'évolution dans le temps des modifications de l'excitabilité axonale au cours de stimulations appliquées sur le nerf. Ces modifications ont été étudiées à l'aide d'une méthode de suivi du seuil (Bostock et al. 1998). L'excitabilité axonale a été évaluée en mesurant les variations de l'intensité requise pour générer une onde M d'environ 30 % de l'onde Mmax lors d'un protocole de fatigue comportant 480 contractions appliquées au niveau du nerf péronier commun. Ainsi, l'augmentation du courant nécessaire pour produire l'onde M cible représente l'intensité supplémentaire nécessaire pour surmonter le changement de l'excitabilité axonale. Il a été constaté que l'intensité suffisante pour produire l'onde M cible augmentait au cours du protocole de fatigue et donc que l'excitabilité axonale diminuait. Ces changements d'intensité traduisent une diminution de l'excitabilité des axones moteurs, car il n'y a pas eu de diminution concomitante de la transmission dans la jonction neuromusculaire, ou du sarcolemme, étant donné qu'aucun changement de l'amplitude de l'onde Mmax n'a été observé. L'étude de Kiernan a examiné l'excitabilité axonale avant et après une stimulation répétée pendant 10 min sur le nerf médian (Kiernan et al. 2004). Cette stimulation répétée a entraîné une diminution prolongée de l'excitabilité des afférences et des axones moteurs. Cependant, des modifications plus importantes du seuil sont survenues dans les axones moteurs : le seuil a été augmenté de 9,9% et 16,4% pour des durées d'impulsions respectives de 0,1 et 1 ms, contre 5,4% et 8,3% pour les afférences sensorielles. Ces changements de seuil ont été associés à une hyperpolarisation axonale qui entraîne une diminution du nombre d'UM actives et contribuent ainsi à la diminution de la force développée (Bergmans et Michaux 1970; Bostock et Bergmans 1994; Kiernan et al. 2004). La diminution de l'excitabilité des axones moteurs réduit la capacité à dépolariser les axones avec le même

stimulus externe. En conséquence, si l'intensité de stimulation reste inchangée, des UM ne seront pas actives au fur et à mesure que l'excitabilité des axones moteurs diminue, entraînant une diminution de la force. L'importance de ce phénomène dépend de la fréquence de décharge des UM (Kiernan et al. 2004) et de la durée de contraction (Vagg et al. 1998).

Plusieurs études ont rapporté que ces phénomènes de changement d'excitabilité du seuil des axones moteurs pouvaient survenir au cours de trains de stimulation appliqués sur le muscle. Par exemple, Papaiordanidou et ses collègues ont examiné le développement de la fatigue musculaire au cours de protocoles d'électrostimulation utilisant deux fréquences de stimulation différentes (30 vs 100 Hz) (Papaiordanidou et al. 2014). Les auteurs ont montré que le protocole utilisant des fréquences de stimulation plus élevées induisait une plus grande perte de force au cours des trains de stimulation, alors que la perte de CMV était identique après les deux protocoles. De plus, les pertes de la secousse à l'intensité de stimulation étaient corrélées avec les pertes de force au cours du protocole seulement pour la stimulation à 30 Hz, démontrant ainsi que lors du protocole à 100 Hz d'autres mécanismes pouvaient être à l'origine des pertes de force. En effet, la sollicitation répétée des axones moteurs à haute fréquence peut avoir entraîné une augmentation du seuil d'excitabilité des branches axonales intramusculaires actives, provoquant une diminution du nombre d'UM actives (Matkowski et al. 2015). Ce phénomène lié aux modifications de l'excitabilité axonale, est observé pour les hautes fréquences de stimulation (Bostock et Bergmans 1994), et pourrait expliquer la diminution plus importante de force évoquée au cours d'une stimulation à haute fréquence par rapport à une stimulation à basse fréquence.

Au vu des résultats observés [moindre perte de force au cours d'un train de stimulation à haute fréquence induisant un recrutement indirect des UM comparativement à un recrutement direct (Lagerquist et al. 2009) vs plus grandes pertes de force lors des trains répétés de stimulation à hautes fréquences par rapport aux basses fréquences sans contrôle du recrutement initial des UM (Neyroud et al. 2014)], la question concernant le niveau de fatigue induite et la capacité de maintien du niveau de force au cours des contractions évoquées électriquement permettant le développement de l'extra force reste posée. Par conséquent, l'objectif de la première étude est d'examiner la fatigue neuromusculaire du triceps sural, en utilisant un protocole combinant de grandes largeurs d'impulsions et de faibles intensités de stimulation, délivré sur le nerf tibial, afin de maximiser le recrutement indirect des UM et donc de permettre le développement de l'extra force. De plus, deux fréquences de stimulation ont été testées (20

et 100 Hz) afin de pallier une éventuelle diminution de la force évoquée due à des changements de l'excitabilité des axones moteurs.

6. Contribution expérimentale

**Impact de la fréquence de stimulation sur la fatigue
neuromusculaire**

Impact of stimulation frequency on neuromuscular fatigue

Florian Vitry, Alain Martin, Maria Papaioordanidou

Publié dans *European Journal of Applied Physiology* (2019).



Impact of stimulation frequency on neuromuscular fatigue

Florian Vitry¹ · Alain Martin¹ · Maria Papaioordanidou¹

Received: 26 June 2019 / Accepted: 1 October 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Purpose The aim of the present study was to examine the frequency effects (20 Hz and 100 Hz) on neuromuscular fatigue using stimulation parameters favoring an indirect motor unit recruitment through the afferent pathway.

Methods Nineteen subjects were divided into two groups: 20 Hz ($n = 10$) and 100 Hz ($n = 9$). The electrical stimulation session consisted of 25 stimulation trains (20 s ON/20 s OFF, pulse width: 1 ms) applied over the tibial nerve and delivered at an intensity evoking 10% maximal voluntary isometric contraction (MVIC). Before and after these protocols, MVIC was assessed, while neural changes were evaluated by the level of activation (VAL) and muscle changes were evaluated by the twitch associated with the maximal M -wave (Pt). For all stimulation trains, the real and the theoretical values of the torque-time integral (TTIr and TTlth, respectively) were calculated. The TTIr/TTlth ratio of the first train was calculated to evaluate the presence of extra torque.

Results The main results showed a similar decrease in MVIC torque after both protocols accompanied by neural and muscle changes, as evidenced by the decrease in VAL and Pt. TTIr values across the 20-Hz trains remained constant, whereas they significantly decreased during the 100-Hz stimulation trains. The relative MVIC decrease was negatively correlated with TTIr/TTlth.

Conclusion Results give evidence of an identical neuromuscular fatigue development between protocols, while lower stimulation frequency permitted preservation of a given torque level during the stimulation trains. The negative correlation between this fatigue development and TTIr/TTlth suggests that extra torque production induces greater voluntary torque losses.

Keywords Extra torque · Electrical stimulation · Afferent feedback · Voluntary activation level

Abbreviations

ANOVA	Analysis of variance
EMG	Electromyographic activity
ET	Extra torque
M_{MAX}	Maximal M -wave
MU	Motor unit
MVIC	Maximal voluntary isometric contraction
NMES	Neuromuscular electrical stimulation
Pt	Peak torque amplitude of the potentiated twitch associated to M_{MAX}
SOL	Soleus
TTI	Torque-time integral
TTIr	Real torque-time integral

TTlth	Theoretical torque-time integral
VAL	Voluntary activation level
WPHF	Wide-pulse high frequency

Introduction

Neuromuscular electrical stimulation (NMES) consists of evoking contractions by applying an electrical current over the muscle or motor nerve via surface electrodes and is mainly used in rehabilitation and training programs (Maffiuletti 2010). Although NMES is an efficient stimulus to induce torque increases (Hortobágyi and Maffiuletti 2011), its use is limited by the development of neuromuscular fatigue. Indeed, due to the non-physiological motor units' (MU) recruitment as compared to voluntary contractions (Gregory and Bickel 2005; Jubeau et al. 2007), metabolic stress is sharply increased under NMES (Vanderthommen et al. 2003), leading to marked and early fatigue development (Theurel et al.

Communicated by Toshio Moritani.

✉ Florian Vitry
florian.vitry@u-bourgogne.fr

¹ INSERM UMR1093-CAPS, Université Bourgogne Franche-Comté, UFR des Sciences du Sport, 21000 Dijon, France

2007). This important drawback limits the wide acceptance and use of NMES in the clinical context.

To counteract this problem, numerous studies have focused on determining the stimulation protocol that would minimize muscle fatigue and maximize muscle performance, by varying stimulation parameters such as stimulation frequency and pulse duration (Binder-Macleod and Scott 2001; Kesar and Binder-Macleod 2006; Scott et al. 2007; Kesar et al. 2008). A new stimulation paradigm has been proposed using wide-pulse durations (1 ms) combined with high frequencies (> 80 Hz) and delivered at low stimulation intensities (evoking 5–10% MVIC), called wide-pulse high frequency (WPHF) stimulation (Collins et al. 2001, 2002; Collins 2007). Indeed, wide-pulse durations combined with low current intensities favor the recruitment of sensory axons (Veale et al. 1973; Kiernan et al. 2004) and minimize the antidromic collision in solicited motor axons, permitting in that way action potentials traveling from the spinal cord to reach muscles (Dean et al. 2007; Bergquist et al. 2011a). These stimulation conditions induce an indirect MU recruitment by the afferent volley (Bergquist et al. 2011b; Dean et al. 2014) and give rise to higher torques from what would be expected from the direct recruitment of motor axons alone (i.e., extra torque, ET). The reflex activation of spinal motoneurons and their contribution to the torque generation, induced independently of the stimulation frequency (Vitry et al. 2019), likely proceed to a more physiological MU recruitment [following the Henneman's size principle (Henneman et al. 1965)]. Consequently, increasing the indirect MU recruitment during NMES has been shown to induce less torque losses during acute NMES application (1 stimulation train of 30 s) as compared with the recruitment of motor axons alone, implying that these stimulation modalities improve fatigue resistance of electrically evoked contractions (Lagerquist et al. 2009).

Contrary to the acute WPHF application, greater evoked torque decreases during repeated WPHF stimulation trains (20 trains) have been reported as compared with protocols using low-frequency, short-pulse duration and higher stimulation intensity (Neyroud et al. 2014). The fact that, despite a lower total muscle work induced during WPHF stimulation trains, similar decreases on subjects' maximal torque generation capacity were observed after the two protocols, suggests that this new stimulation paradigm induces a greater level of muscle fatigue (Neyroud et al. 2014). This has been explained by the greater metabolic cost per activated MU associated with the higher stimulation frequency (Gorgey et al. 2009). However, there is evidence that the greater torque declines observed during stimulation trains can be also ascribed to changes in axonal excitability threshold of the solicited MU (Bostock and Bergmans 1994; Kiernan et al. 1996), which seem greater under high stimulation frequency (Papaiordanidou et al. 2014). Indeed,

repetitive activation of motor axons can induce increases in their excitability threshold, as a result of axonal hyperpolarization (Kiernan et al. 1996, 2004). An important feature to highlight is that these results have been obtained using stimulation over the muscle belly, a stimulation location that has been shown to proceed to MU activation through the efferent pathway (i.e., direct recruitment) (Bergquist et al. 2011a), thereby limiting partially the development of ET. NMES application over the motor nerve maximizes the indirect MU recruitment through the afferent pathway as compared with stimulation over the muscle belly (Bergquist et al. 2011a), which seems a prerequisite for ET development (Vitry et al. 2019). It is, therefore, still controversial whether electrically evoked contractions permitting ET development are less fatiguing, in terms of impact on maximal voluntary torque-generating capacity, and whether they allow torque preservation during repetitive contractions.

The aim of the present study was to investigate the frequency effects on the extent and origin of neuromuscular fatigue of the triceps surae. To maximize the indirect MU recruitment and hence permit ET development, low stimulation intensity associated with wide-pulse duration and applied over the motor nerve was used, while two stimulation frequencies were tested (20 and 100 Hz). It was hypothesized that low stimulation frequency that minimizes activity-dependent increases in axonal excitability threshold and limits the metabolic cost per activated MU would induce less torque decreases during and after NMES as compared to high stimulation frequency.

Methods

Subjects

Nineteen healthy young adults (22.73 ± 4.89 years, 177.05 ± 8.45 cm, 70.63 ± 9.35 kg) with no history of neurological or muscular disorders gave written informed consent to participate in the present study. The experimental design was approved by the scientific committee of the Faculty of Sport Sciences, University of Burgundy in Dijon and was in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki for human experimentation.

Experimental design

Subjects were randomly assigned into two groups: the 20-Hz group (8 men and 2 women, 22.3 ± 3.2 years, 179.1 ± 8.6 cm, 73.0 ± 9.3 kg) and the 100-Hz group (7 men and 2 women, 23.2 ± 6.6 years, 174.8 ± 8.1 cm, 68.0 ± 9.1 kg). Participants visited the laboratory for one experimental session. After a warm-up, including 8–10 submaximal contractions of the plantar flexors, the maximal *M*-wave (M_{MAX}) stimulation

intensity was determined. Subsequently, two MVICs with superimposed twitch at supramaximal intensity ($120\% M_{\text{MAX}}$) were performed to assess subjects' maximal torque-generating capacity and voluntary activation level (VAL). The stimulation intensity evoking 10% of maximal voluntary isometric contraction (MVIC) was then identified and 25 stimulation trains of 20 s were delivered at 20 or 100 Hz according to the experimental group. Immediately after these fatiguing protocols, one MVIC with superimposed twitch at supramaximal intensity was performed. After each MVIC (pre- and post-measurements), a stimulation at M_{MAX} was evoked at rest to record the potentiated twitch.

Experimental procedures

Nerve stimulation

The posterior tibial nerve was electrically stimulated using a self-adhesive electrode with a 30-mm diameter (Durastick Plus, DJO Global, Vista, CA, USA) placed in the popliteal fossa. The optimal stimulation site (highest muscle response with the lowest stimulation intensity) was initially identified with a hand-held cathode ball electrode. Once this site was determined, the stimulation electrode was tightly fixed in this location using straps. The anode (5×10 cm, Compex SA, Ecublens, Switzerland) was placed over the patella. Monophasic rectangular pulses (1 ms pulse duration) were delivered using a Digitimer stimulator (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, UK), triggered by a commercially available software (Tida, Heka Elektronik, Lambrecht/Pfalz, Germany). Recruitment curve was built at rest to determine soleus (SOL) M_{MAX} intensity. Stimulation intensity was increased using 5-mA increments from M -wave threshold until M_{MAX} (four stimulations at each intensity). The intensity where SOL M_{MAX} plateaued was then increased by at least 20% (supramaximal intensity). Stimulation trains were also delivered through tibial nerve stimulation in the popliteal fossa. The fatiguing protocol consisted of 25 stimulation trains of 20-s duration delivered either at 20 Hz or at 100 Hz with a pulse duration of 1 ms. A 20-s rest period was applied between trains. Intensity was set to evoke an initial torque level corresponding to 10% MVIC and was determined in the initial phase of the experimental procedures with a train lasting 2 s delivered at the corresponding frequency. The stimulation intensity varied between 5.5 and 23 mA (mean 11.25 ± 5.6 mA) for the 20-Hz group and between 3.5 and 22 mA (mean 11.9 ± 6 mA) for the 100-Hz group.

Data acquisition

Torque recording

Voluntary and evoked torques developed by the plantar flexors were recorded using an isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems Inc., Shirley, NY, USA). Subjects were seated on the chair of the dynamometer with the right foot strapped to the pedal at the ankle level. The dynamometer's axis of rotation was aligned with the anatomical plantar- and dorsi-flexion axis of the ankle joint. The ankle angle was set at 0° (90° between the leg and the sole of the foot) and the knee joint was at 110° (180° full extension). This configuration was kept constant during the entire session (pre- and post-measurements, fatiguing protocol).

EMG recording

Electromyographic activity (EMG) recordings were performed to determine M_{MAX} amplitude of the SOL muscle. After shaving and dry cleaning the skin with alcohol to get low impedance ($< 5 \text{ k}\Omega$), EMG signals were obtained using two silver-chloride circular (7 mm recording diameter) surface electrodes (Contrôle Graphique Medical, Brie-Compteur Robert, France) placed with an inter-electrode center-to-center distance of 2 cm. Electrodes were placed 2 cm below the insertion of the two gastrocnemii over the Achilles' tendon. The reference electrode was placed in a central position between the stimulation and recording sites between upper-gastrocnemii insertions. EMG signals were amplified (gain = 1000), filtered (5 kHz) and collected with a sampling frequency of 10 kHz. Torque and EMG data were recorded with Biopac Software (Biopac MP150, Biopac System Inc, USA).

Data analysis

Torque analysis

Maximal voluntary torque was considered as the highest torque value attained during MVIC (for pre the mean value of the two MVICs was considered). The amplitude of the potentiated twitches evoked by supramaximal intensity (Pt) was also analyzed offline (for pre the mean value of the two twitches was considered). It was defined as the maximum value of torque production to a twitch evoked by supramaximal single stimulation (Maffiuletti et al. 2002; Lattier et al. 2004; Papaioordanidou et al. 2010). The VAL was estimated according to the modified version of VAL formula proposed by Strojnik and Komi (1998).

$$\text{VAL (\%)} = (1 - (\text{superimposed twitch} \times (\text{MVIC at stimulation}/\text{MVIC}))/\text{potentiated twitch}) \times 100.$$

For each stimulation train, the real torque-time integral value (TTIr) was quantified. It corresponded to the integral of the entire 20-s period. The sum of the TTIr of the 25 stimulation trains was calculated to determine the total TTI developed by each subject during the session (Σ TTI). The TTIr mean values of each stimulation train were also calculated to observe their evolution across the session. Because during stimulation trains the phenomenon of ET can be observed (a progressively increasing torque output that arises in addition to what would be expected from the direct response to motor axon stimulation) (Collins et al. 2001, 2002), the theoretical value of torque-time integral (TTIth) was also estimated for each first stimulation train. This corresponded to the integral of the first 2 s of the torque plateau multiplied by 10 (Fig. 1b, left panel), while when there was no clear identified plateau (Fig. 1b, right panel), 1

s before and 1 s after the instant when torque reached 10% MVIC were considered to calculate TTIth. This parameter expresses the TTI that would be theoretically developed during this first train without the presence of ET, fatigue or changes in axonal excitability threshold of motor axons (Vitry et al. 2019). The ratio between these two values of the first train was calculated for each subject to evaluate the presence or not of ET (ET corresponds to $\text{TTIr}/\text{TTIth} > 1$) (Vitry et al. 2019).

EMG analysis

SOL EMG activity associated with the twitches elicited at supramaximal intensity was recorded and averaged for the analysis. The peak-to-peak amplitude of M_{MAX} was calculated.

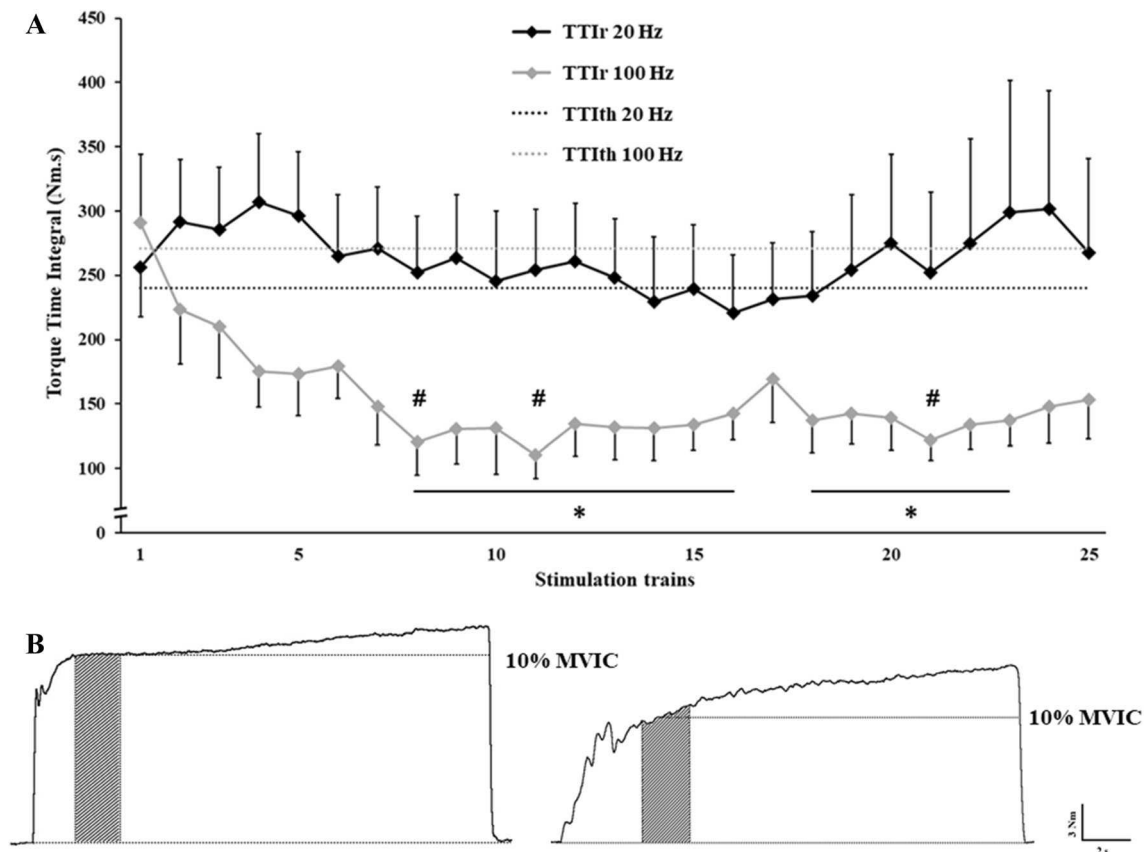


Fig. 1 Torque-time integral (TTI) evolution during the sessions and typical traces of the method of TTIth calculation. **a** TTIr remained constant during the 20-Hz session, while it significantly decreased from the 8th stimulation train for the 100-Hz group. Dotted lines represent the average TTIth of the first train for the 20-Hz group (black line) and for the 100-Hz group (grey line). Although during the first stimulation train there was development of extra torque for both protocols (TTIr value $>$ TTIth value), this held true for the entire session only for the 20-Hz group (excepted for trains 14–18). Despite the important TTIr decrease for the 100-Hz group, there was only a tendency for Σ TTI during the 100-Hz being lower than the

one developed during the 20-Hz protocol ($P=0.07$). **b** Torque traces of two subjects during a 20-s stimulation train at 20 Hz. The dark hatched area corresponds to the first 2 s in the torque plateau used to estimate TTIth (left panel). This value was then multiplied by 10. When there was no clear identified plateau (right panel), 1 s before and 1 s after the instant when torque reached 10% MVIC were considered to calculate TTIth. TTIr corresponds to the integral of the entire 20-s period. Extra torque corresponds to $\text{TTIr}/\text{TTIth} > 1$. TTIr, real Torque-time integral; TTIth, theoretical torque-time integral. * $P < 0.05$, significant difference from the first train. # $P < 0.05$, significant difference from TTIth

Statistical analysis

Normal distribution (Shapiro–Wilk test, $P > 0.05$) and homogeneity of variances (Levene's test, $P > 0.05$) for all variables were checked to ensure that parametric ANOVA could be used. A two-way ANOVA [frequency (20 Hz vs 100 Hz) $\times$ time (pre vs post)] was performed to assess differences on mechanical (MVIC, VAL, Pt) and EMG data (M_{MAX}), while a two-way ANOVA [frequency (20 Hz vs 100 Hz) $\times$ stimulation trains (train 1–train 25)] was performed to compare the evolution of TTIr values across the session. To compare TTIr and TTlth values a two-way ANOVA [frequency (20 Hz vs 100 Hz) $\times$ stimulation trains (TTlth of the first train + 25 TTIr values)] was performed. When a significant main or interaction effect was observed, the HSD Tukey post hoc test was performed. A t test analysis was used to compare the $\sum \text{TTI}$ developed by each group as well as to assess differences between pre-values of both groups for MVIC, VAL and Pt. Correlations between selected variables (TTIr/TTlth ratio of the first train, relative decrease of MVIC, $\sum \text{TTI}$) were tested with Pearson coefficient. A significance level of $P < 0.05$ was accepted for all analyses. Effect sizes were calculated and are reported as partial eta squared (η_p^2) with small, moderate and large effects considered for $\eta_p^2 \geq 0.01$, ≥ 0.07 and ≥ 0.14 , respectively, and Cohen's d values are reported with small, moderate and large effects considered for $d \geq 0.2$, ≥ 0.5 and ≥ 0.8 , respectively. All data are expressed as mean $\pm$ standard deviation in text and as mean $\pm$ standard error in figures. All statistical tests were performed using Statistica software (Statsoft, version 7.1, Tulsa, OK, USA), except the Cohen's effect sizes that were calculated with G * Power software (version 3.1.9, Universität Düsseldorf, Germany).

Results

There were no differences in pre-values of the two groups for MVIC, VAL and Pt ($P > 0.05$). Plantar flexors MVIC showed a significant pre/post-effect ($F_{1,17} = 17.57$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.51$), indicating a similar loss in maximal voluntary torque production after the 25 stimulation trains for both protocols. Indeed, MVIC pre-value was 109.97 ± 36.96 Nm and post-value was 104.35 ± 39.55 Nm.

Although t test analysis did not reveal any significant difference in $\sum \text{TTI}$ values between the two groups ($P = 0.07$), there was a strong tendency for $\sum \text{TTI}$ of 100 Hz being smaller compared with the $\sum \text{TTI}$ of 20 Hz (3850 ± 1523 Nm.s and 6577 ± 4052 Nm.s for the 100- and 20-Hz group respectively).

The two-way ANOVA showed an interaction effect frequency $\times$ stimulations trains ($F_{25,425} = 1.75$, $P < 0.05$, $\eta_p^2 = 0.09$) for the evolution of TTlth values across the session. Post hoc analysis revealed that during the 100-Hz protocol, TTlth significantly decreased from the 8th stimulation train ($P < 0.05$) and remained constant thereafter except for the 16th, the 24th and the 25th stimulation train ($P > 0.05$), whereas during the 20-Hz session TTlth remained constant throughout the session ($P > 0.05$, Fig. 1). This same analysis showed that each TTlth was not significantly different from TTlth for the 20-Hz, whereas TTlth of the 8th, 11th and 21th trains was significantly different from TTlth for the 100-Hz.

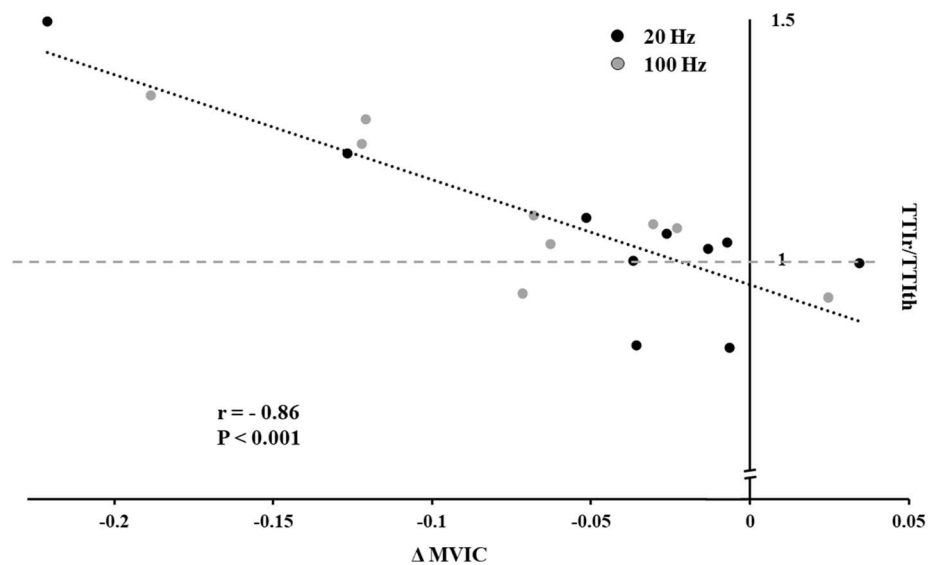
Interestingly, the TTlth/TTlth ratio of the first stimulation train was negatively correlated with the relative decrease of MVIC ($r = -0.86$; $P < 0.001$) for both protocols, showing that subjects having the higher TTlth/TTlth presented the greater MVIC decrease after the 25 stimulation trains (Fig. 2). On the contrary, no significant correlation was found between the relative MVIC decrease and $\sum \text{TTI}$ ($r = 0.12$; $P = 0.62$).

Statistical analysis revealed a significant pre/post-effect for VAL ($F_{1,17} = 6.05$, $P < 0.05$, $\eta_p^2 = 0.26$) and Pt ($F_{1,17} = 49.78$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.74$). VAL significantly decreased after the 25 stimulation trains for both protocols ($87.68 \pm 5.20\%$ vs. $85.71 \pm 7.11\%$ for pre- and post-values, respectively). These results were also accompanied by a significant decrease of Pt for both frequencies (16.43 ± 3.48 Nm vs. 14.2 ± 3.43 Nm for pre- and post-values, respectively). M_{MAX} remained unchanged after the 25 stimulation trains for both protocols ($P > 0.05$, $\eta_p^2 = 0.03$).

Discussion

The present study investigated the frequency effects on neuromuscular fatigue of the triceps surae after an NMES session applied over the motor nerve and delivered at low stimulation intensity. It was hypothesized that low stimulation frequency would induce less torque decreases during and after NMES as compared with the higher stimulation frequency. The main results showed a similar significant decrease in MVIC torque after both protocols accompanied by neural and muscle changes, as evidenced by the decrease in VAL and Pt. These results were obtained despite a strong tendency for $\sum \text{TTI}$ values being smaller during the 100-Hz protocol. TTlth values across the 20-Hz trains remained constant, whereas they significantly decreased during the 100-Hz stimulation trains. Finally, the relative MVIC torque decrease was negatively correlated with the TTlth/TTlth ratio of the first stimulation train (subjects with the initial higher TTlth/TTlth ratio were the ones who lost the most).

Fig. 2 Correlation between $TTIr/TTIth$ and the relative MVIC decrease ($\Delta MVIC$). There was a negative correlation between $TTIr/TTIth$ and $\Delta MVIC$ ($r = -0.86$; $P < 0.001$), indicating that subjects having the higher $TTIr/TTIth$, presented the greater MVIC decrease after the stimulation protocols. The dashed horizontal line at 1 represents equal $TTIr$ and $TTIth$ values. All points that are above this line have a $TTIr/TTIth > 1$, indicating the presence of extra torque. $TTIr$, real torque-time integral; $TTIth$, theoretical torque-time integral; MVIC, maximal voluntary isometric contraction



Results of the present study showed a decrease in MVIC torque observed after an NMES session applied over the motor nerve at a low intensity (10% MVIC) for both stimulation frequencies tested (20 and 100 Hz). Indeed, the mean decrease was of a magnitude of $6 \pm 6\%$ ($4.8 \pm 7.3\%$ for the 20-Hz and $7.3 \pm 6.3\%$ for the 100-Hz) and was accompanied by a significant decline in VAL as well as in Pt amplitude. These torque losses are of the same magnitude with those reported by previous studies having applied low-intensity NMES over the muscle (Neyroud et al. 2014), but lower than those observed by studies having used maximal tolerated intensity, evoking 40–55% MVIC. Indeed, torque losses of a magnitude of 10% have been observed after fatiguing NMES protocols using either high (Boerio et al. 2005) or low stimulation frequencies (Papaiordanidou et al. 2010), but short pulse duration (400–450 μs). These differences can be explained in part by the greater torque levels adopted in previous protocols, suggesting that since only a small fraction of MU participating in MVIC torque production was activated during the NMES session in the present study, the magnitude of the observed fatigue was less. Concerning the origin of the observed MVIC decrease, results indicate that it could be attributed to both neural and muscle mechanisms for both protocols. The decrease in VAL indicates a reduction in neural drive reaching the working muscles and is an evidence of decreased MU recruitment and/or firing rate (Kent-Braun 1999), alterations that take place within the central nervous system at the supraspinal and/or spinal levels. Concomitant to this neural fatigue, the muscle origin of electrically induced fatigue, as evidenced by the diminished Pt amplitude after both protocols (Fitts 2008), was also observed. This is consistent with repeated activation of the same muscle fibers and can be explained by altered muscle contractile properties (Allen and Westerblad 2001), while it

has widely been reported in the literature (Boerio et al. 2005; Zory et al. 2005; Neyroud et al. 2014).

These results (same extend and origin of neuromuscular fatigue after the 20- and 100-Hz protocols) were obtained despite a strong tendency for $\sum TTI$ during the 100-Hz protocol being smaller than the one developed during the 20-Hz session ($P = 0.07$). Indeed, the evolution of $TTIr$ values across the 20-Hz trains was constant, whereas $TTIr$ sharply decreased between the first and second 100-Hz train, despite this decrease becoming significant from the 8th stimulation train. Moreover, $TTIr$ values of the 100-Hz trains were lower from $TTIth$ values (except the first train). These observations indicate that under high stimulation frequency, torque decreases during repeated stimulation trains are greater than those obtained during low stimulation frequency. The presence of ET under these conditions, observed only for the first train, is a transitory physiological phenomenon, not sufficient to maintain a given torque level due to the progressive appearance of other physiological phenomena related to high stimulation frequency, such as higher metabolic cost per activated MU (Gorgey et al. 2009) and/or decreased number of activated MU caused by activity-dependent changes in axonal excitability threshold (Bostock and Bergmans 1994; Kiernan et al. 1996; Vagg et al. 1998). Indeed, the repetitive activation of MU at high frequency may have induced on one hand a greater fatigue of the solicited MU and on the other hand a reduction in the number of solicited MU which have an excitability threshold close to the pulse amplitude. This would have contributed to the greater evoked torque decrease during the high-frequency stimulation trains (Matkowski et al. 2015). Although the latter phenomenon may have occurred during both protocols, its contribution to torque losses seems greater during high stimulation frequencies

(Papaiordanidou et al. 2014). In fact, during the 20-Hz protocol TTIr values were not different from TTlth and, as shown in Fig. 1, their mean values were even higher from TTlth for the majority of the stimulation trains. It can, therefore, be concluded that under low stimulation frequency ET development can persist throughout the NMES session, avoiding important torque decreases due to MU fatigue or to changes in the excitability threshold of motor axons.

Despite the importance of ET development in the maintenance of a given torque level during repeated stimulation trains, the present results give evidence of greater MVIC torque losses after the two stimulation protocols for subjects who initially developed greater ET. MVIC torque losses for both protocols were negatively correlated with the TTIr/TTlth ratio of the first train, indicating that subjects producing more ET in the beginning of the protocol were the ones who lost the most and this independently of the stimulation frequency. Although stimulation parameters were adjusted to evoke an initial torque level corresponding to 10% MVIC, development of ET, as evidenced by a TTIr/TTlth > 1 (Vitry et al. 2019), occurred for some of the subjects and these subjects presented the greater MVIC declines at post-conditions. The presence of ET has been commonly ascribed to additional synaptic recruitment of motor neurons and/or to activation of persistent inward currents in spinal neurons (Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009). Independently of the exact physiological mechanism, the electrically evoked afferent volley during NMES permitting the development of ET in the initial phase of the stimulation protocols resulted in greater voluntary torque declines after the protocols. This could not be explained by a greater $\sum$ TTI, since the total muscle work did not show any significant correlation with the MVIC losses.

To conclude, to study the frequency effects of electrically induced neuromuscular fatigue, it appears important to clearly distinguish phenomena occurring during repetitive electrical stimulation from their impact on maximal force generating capacity after the repeated trains. Results of the present study give evidence of an identical neuromuscular fatigue development between protocols using high or low stimulation frequency, in terms of amount and origin (neural vs. muscle mechanisms). The negative correlation between this fatigue development (MVIC torque decrease) and the TTIr/TTlth ratio of the first train suggests that ET production induces greater torque losses. On the other hand, increased metabolic stress of the solicited MU and changes in axonal excitability threshold occurring during high stimulation frequency preclude torque maintenance during repeated stimulation trains. This can be avoided under lower stimulation frequency when ET development permits preservation of a given torque level.

Author contributions FV, AM and MP conceived and designed research; FV conducted experiments; FV analyzed data; FV, AM and MP interpreted results of experiments; FV prepared figures; FV and MP drafted manuscript; FV, AM and MP edited and revised manuscript; FV, AM and MP approved final version of manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Allen DG, Westerblad H (2001) Role of phosphate and calcium stores in muscle fatigue. *J Physiol* 536:657–665
- Bergquist AJ, Clair JM, Collins DF (2011a) Motor unit recruitment when neuromuscular electrical stimulation is applied over a nerve trunk compared with a muscle belly: triceps surae. *J Appl Physiol* 110:627–637
- Bergquist AJ, Clair JM, Lagerquist O et al (2011b) Neuromuscular electrical stimulation: implications of the electrically evoked sensory volley. *Eur J Appl Physiol* 111:2409–2426
- Binder-Macleod SA, Scott WB (2001) Comparison of fatigue produced by various electrical stimulation trains. *Acta Physiol Scand* 172:195–203
- Boerio D, Jubeau M, Zory R, Maffiuletti NA (2005) Central and peripheral fatigue after electrostimulation-induced resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 37:973–978
- Bostock H, Bergmans J (1994) Post-tetanic excitability changes and ectopic discharges in a human motor axon. *Brain* 117:913–928
- Collins DF (2007) Central contributions to contractions evoked by tetanic neuromuscular electrical stimulation. *Exerc Sport Sci Rev* 35:102–109
- Collins DF, Burke D, Gandevia SC (2001) Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. *J Neurosci* 21:4059–4065
- Collins DF, Burke D, Gandevia SC (2002) Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. *J Physiol* 538:289–301
- Dean J, Yates L, Collins DF (2007) Turning on the central contributions to contractions evoked by neuromuscular electrical stimulation. *J Appl Physiol* 9:102–109
- Dean JC, Clair-Augier JM, Lagerquist O, Collins DF (2014) Asynchronous recruitment of low-threshold motor units during repetitive, low-current stimulation of the human tibial nerve. *Front Hum Neurosci* 8:1–12
- Fitts RH (2008) The cross-bridge cycle and skeletal muscle fatigue. *J Appl Physiol* 104:551–558
- Gorgey AS, Black CD, Elder CP, Dudley GA (2009) Effects of electrical stimulation parameters on fatigue in skeletal muscle. *J Orthop Sport Phys Ther* 39:684–692
- Gregory CM, Bickel CS (2005) Recruitment patterns in human skeletal muscle during electrical stimulation. *Phys Ther* 85:358–364
- Henneman E, Somjen G, Carpenter DO (1965) Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *J Neurophysiol* 28:560–580
- Hortobágyi T, Maffiuletti NA (2011) Neural adaptations to electrical stimulation strength training. *Eur J Appl Physiol* 111:2439–2449
- Jubeau M, Gondin J, Martin A et al (2007) Random motor unit activation by electrostimulation. *Int J Sports Med* 28:901–904
- Kent-Braun JA (1999) Central and peripheral contributions to muscle fatigue in humans during sustained maximal effort. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 80:57–63

- Kesar T, Binder-Macleod S (2006) Effect of frequency and pulse duration on human muscle fatigue during repetitive electrical stimulation. *Exp Physiol* 91:967–976
- Kesar T, Chou LW, Binder-Macleod SA (2008) Effects of stimulation frequency versus pulse duration modulation on muscle fatigue. *J Electromyogr Kinesiol* 18:662–671
- Kiernan M, Mogyoros I, Burke D (1996) Differences in the recovery of excitability in sensory and motor axons of human median nerve. *Brain* 119:1099–1105
- Kiernan MC, Lin CS-Y, Burke D (2004) Differences in activity-dependent hyperpolarization in human sensory and motor axons. *J Physiol* 558:341–349
- Lagerquist O, Walsh LD, Blouin J-S et al (2009) Effect of a peripheral nerve block on torque produced by repetitive electrical stimulation. *J Appl Physiol* 107:161–167
- Lattier G, Millet G, Martin A, Martin V (2004) Fatigue and recovery after high-intensity exercise. Part I: neuromuscular fatigue. *Int J Sport Med* 25:450–456
- Maffiuletti NA (2010) Physiological and methodological considerations for the use of neuromuscular electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol* 110:223–234
- Maffiuletti NA, Pensini M, Martin A (2002) Activation of human plantar flexor muscles increases after electromyostimulation training. *J Appl Physiol* 92:1383–1392
- Matkowski B, Lepers R, Martin A (2015) Torque decrease during sub-maximal evoked contractions of the quadriceps muscle is linked not only to muscle fatigue. *J Appl Physiol* 118:1136–1144
- Neyroud D, Dodd D, Gondin J et al (2014) Wide-pulse-high-frequency neuromuscular stimulation of triceps surae induces greater muscle fatigue compared with conventional stimulation. *J Appl Physiol* 116:1281–1289
- Papaiordanidou M, Guiraud D, Varray A (2010) Does central fatigue exist under low-frequency stimulation of a low fatigue-resistant muscle? *Eur J Appl Physiol* 110:815–825
- Papaiordanidou M, Stevenot JD, Mustacchi V et al (2014) Electrically induced torque decrease reflects more than muscle fatigue. *Muscle Nerve* 50:604–607
- Scott WB, Lee SCK, Johnston TE et al (2007) Effect of electrical stimulation pattern on the force responses of paralyzed human quadriceps muscles. *Muscle Nerve* 35:471–478
- Strojnik V, Komi PV (1998) Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. *J Appl Physiol* 84:344–350
- Theurel J, Lepers R, Pardon L, Maffiuletti NA (2007) Differences in cardiorespiratory and neuromuscular responses between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris muscle. *Respir Physiol Neurobiol* 157:341–347
- Vagg R, Mogyoros I, Kiernan MC, Burke D (1998) Activity-dependent hyperpolarization of human motor axons produced by natural activity. *J Physiol* 507:919–925
- Vanderthommen M, Duteil S, Wary C et al (2003) A comparison of voluntary and electrically induced contractions by interleaved 1H- and 31P-NMRS in humans. *J Appl Physiol* 94:1012–1024
- Veale JL, Mark RF, Rees S (1973) Differential sensitivity of motor and sensory fibres in human ulnar nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 36:75–86
- Vitry F, Martin A, Deley G, Papaïordanidou M (2019) Effect of reflexive activation of motor units on torque development during electrically-evoked contractions of the triceps surae muscle. *J Appl Physiol* 126:386–392
- Zory R, Boërio D, Jubeau M, Maffiuletti NA (2005) Central and peripheral fatigue of the knee extensor muscles induced by electromyostimulation. *Int J Sports Med* 26:847–853

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

7. Résumé et perspectives

Cette première étude avait pour objectif d'évaluer les effets de la fréquence de stimulation sur la fatigue neuromusculaire induite lors de contractions évoquées électriquement. Les résultats montrent que les basses fréquences de stimulation (20 Hz) et les hautes fréquences de stimulation (100 Hz) ont induit un développement identique de la fatigue neuromusculaire en terme de perte de CMV. D'autre part, la force développée au cours des trains de stimulation à haute fréquence a diminué, indiquant que des modifications du seuil de l'excitabilité axonale sont intervenues. Néanmoins, cette étude a montré que les sujets qui avaient perdu davantage de capacité de production de force étaient ceux qui avaient développé initialement de l'extra force, suggérant que l'extra force induit des pertes de force plus importantes quelle que soit la fréquence de stimulation. Au vu des résultats, il apparaît important de distinguer clairement deux évaluations de la fatigue. D'une part, les phénomènes survenant sur la capacité de production de force maximale évaluée par les pertes de CMV entre avant et après une session d'électrostimulation, et d'autre part les phénomènes intervenant au cours des trains de stimulation.

Après avoir observé les effets aigus de ces protocoles délivrés au niveau du nerf à faible intensité de stimulation combinée à de grandes largeurs d'impulsions, pour deux fréquences de stimulation différentes, il se pose la question de leur impact lors d'une application chronique. Nous allons nous intéresser à cette question lors de la suite de ce travail de thèse.

III. EFFETS CHRONIQUES DE L'ELECTROSTIMULATION

1. Introduction

Le renforcement musculaire induit une augmentation de la force maximale développée (Sale 1988), liée à des adaptations survenant aux niveaux nerveux et musculaire. Pendant un entraînement en force, les adaptations nerveuses surviennent généralement dans un premier temps (de 0 à 4 semaines), puis dans une seconde phase (de 4 à 8 semaines) des adaptations peuvent avoir lieu au niveau musculaire (Sale 1988). Les adaptations nerveuses sont le reflet d'une amélioration de la commande descendante, indiquant une capacité à mieux activer les muscles, soit en augmentant le nombre d'UM activées, soit en augmentant la fréquence de décharge de celles-ci, tandis que les adaptations musculaires sont liées à des phénomènes survenant au sein du muscle, tels que l'hypertrophie. Nous allons décrire dans la partie suivante les méthodes pour évaluer les différentes adaptations pouvant survenir après un entraînement.

2. Adaptations musculaires

Dans cette partie, nous allons nous intéresser principalement à l'onde Mmax et à la réponse mécanique associée permettant d'évaluer les adaptations survenant au niveau musculaire.

La stimulation électrique percutanée est une méthode non invasive qui consiste à appliquer un stimulus électrique à intensité supra maximale au niveau du nerf moteur, afin de provoquer une réponse maximale du muscle. Cette technique permet l'enregistrement de la réponse électrophysiologique du muscle suite à une stimulation maximale, appelée onde Mmax, et l'enregistrement de la réponse mécanique associée, appelée secousse musculaire ou twitch.

L'onde Mmax correspond à la somme des potentiels d'action évoqués par la stimulation électrique de toutes les UM du muscle, qui, à intensité maximale de stimulation, sont recrutées de façon synchrone. L'onde Mmax est un indice de l'excitabilité musculaire, puisqu'elle renseigne sur l'efficacité de la transmission et de la propagation des potentiels d'action le long des fibres musculaires, et se caractérise par son amplitude et sa durée. La diminution de l'amplitude de l'onde Mmax peut être interprétée comme une altération de la transmission neuromusculaire (Fuglevand et al. 1993). Elle indique également une altération d'un ou plusieurs processus impliqués dans la transformation du potentiel d'action axonal en un potentiel d'action musculaire. La durée de l'onde Mmax serait un reflet de la vitesse de conduction des potentiels d'action le long du sarcolemme (Moritani et al. 1985).

La secousse correspond, quant à elle, à la sommation des réponses mécaniques de chacune des UM. Ainsi, l'onde Mmax et la réponse mécanique associée sont des reflets du couplage excitation-contraction. Les autres paramètres de la secousse musculaire (vitesse de contraction et de relaxation) renseignent sur les propriétés contractiles du muscle. Ceux-ci sont plutôt associés aux mouvements calciques dans le muscle (Fitts 1994).

3. Adaptations nerveuses

Dans cette partie, nous allons nous intéresser aux paramètres permettant d'évaluer les adaptations survenant au niveau nerveux, tels que le niveau d'activation volontaire, l'activité EMG, le potentiel moteur évoqué (*Motor Evoked Potential*, MEP), le réflexe V ainsi que le réflexe H.

3.1. Niveau d'activation volontaire

Le niveau d'activation volontaire représente la commande motrice descendante émanant du cortex moteur en direction des muscles ciblés lors d'une contraction volontaire ou d'un exercice. Il peut être quantifié par la technique de la secousse surimposée, connue comme « twitch interpolation technique ». Cette technique mise au point par Merton consiste à appliquer une stimulation surimposée au niveau du nerf moteur à une contraction maximale volontaire (Merton 1954), afin d'activer les UM non recrutées par la commande volontaire. En comparant la réponse de la stimulation surimposée, à une même stimulation appliquée au repos immédiatement après la contraction, il est possible d'avoir un index de la fraction d'UM volontairement activées, et ainsi de calculer le niveau d'activation volontaire (Allen et al. 1995) défini par la formule suivante :

$$NAV = \left(1 - \frac{\text{secousse surimposée}}{\text{secousse potentialisée}} \right) \times 100$$

Dans le cas où la stimulation surimposée n'est pas délivrée au moment où la force atteint le plateau maximal (Figure 15), la correction de Strojnik et Komi (Strojnik et Komi 1998) prenant en compte le moment développé lors de la secousse surimposée peut être utilisée avec la formule suivante :

$$NAV = \left[1 - \left(\frac{CMVstim}{CMV} \right) \times \left(\frac{secousse\ surimposée}{secousse\ potentialisée} \right) \right] \times 100$$

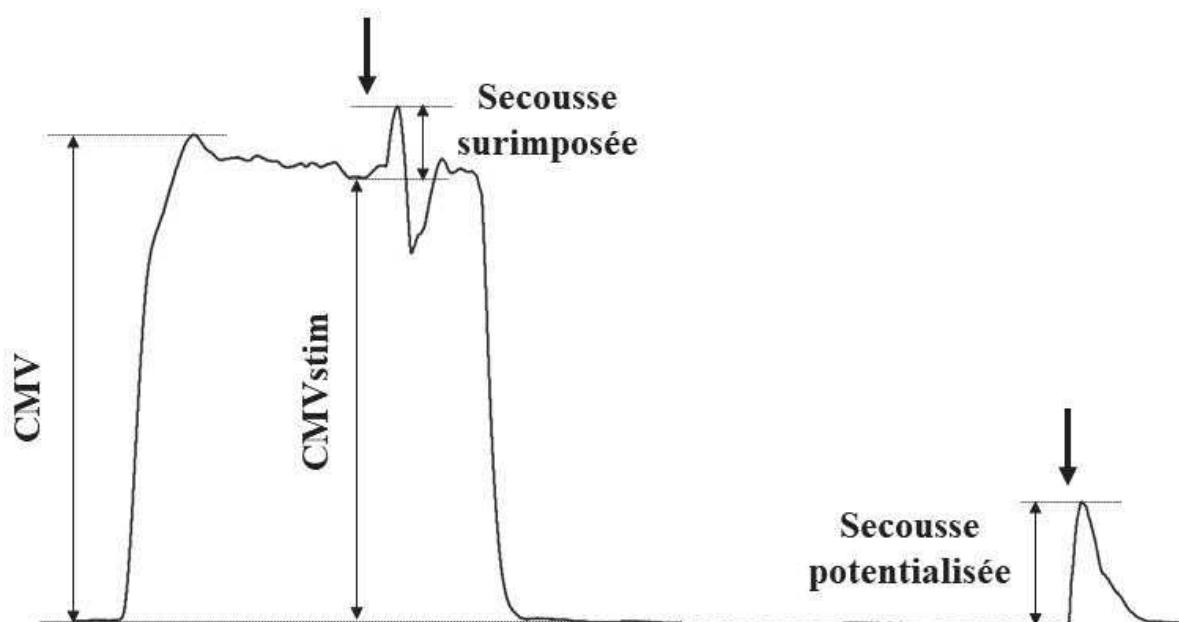


Figure 15. Exemple d'un enregistrement d'une CMV, où la correction de Strojnik et Komi est appliquée pour calculer le niveau d'activation volontaire. *Données personnelles.*

Ainsi, si le muscle est maximalelement activé, la secousse surimposée ne provoque pas d'augmentation de la force enregistrée. A l'inverse, une augmentation de la force suite à la secousse surimposée indique une activation incomplète des UM, à la fois spatiale et temporelle (Belanger et McComas 1981), donc plus l'amplitude de la réponse mécanique surimposée à la CMV sera grande, plus le niveau d'activation sera incomplet. Il faut bien prendre en compte qu'une activation incomplète du muscle ne doit pas obligatoirement être considérée comme étant liée à une fatigue d'origine nerveuse, puisque certains groupes musculaires, comme les fléchisseurs du coude (Allen et al. 1998) ou les fléchisseurs plantaires (Belanger et McComas 1981), sont difficiles à activer maximalelement.

Néanmoins, une participation des mécanismes cellulaires à l'augmentation de la secousse surimposée lors de la fatigue a été mise en évidence (Place et al. 2008). Il a été montré que, sur des fibres isolées de souris, une partie de l'augmentation de la secousse surimposée à des trains de stimulation pouvait être attribuée à une augmentation de la concentration de calcium intracellulaire ou à une augmentation de la sensibilité des protéines contractiles au calcium. Ces résultats imposent d'interpréter avec prudence les données issues de la technique d'interpolation pour évaluer les adaptations nerveuses, ou de lui combiner d'autres méthodes

supplémentaires. De plus, une autre limite du niveau d'activation volontaire est qu'il représente la performance globale d'un groupe musculaire (force produite), mais ne permet pas de discriminer les différents muscles impliqués dans le mouvement.

3.2. Activité électromyographique

Pour cela, une autre approche permettant d'évaluer l'activité EMG de chaque muscle consiste à analyser le signal EMG de surface. Il représente l'état de la commande nerveuse et peut être utilisé comme un indicateur du recrutement des UM (Moritani et Muro 1987), à la fois spatial et temporel, sans pour autant permettre de faire la distinction entre ces deux modalités de recrutement (De Luca 1997). De ce signal EMG de surface, la valeur efficace peut être analysée (RMS pour *Root Mean Square*) et représente l'activité musculaire globale. L'intensité de la tâche détermine l'évolution du signal EMG. Ainsi, pendant des contractions isométriques sous-maximales soutenues jusqu'à épuisement, l'activité EMG augmente progressivement, reflétant une augmentation du recrutement et/ou de la fréquence de décharge des UM pour pallier à l'apparition de la fatigue (Bigland-Ritchie et al. 1986). Lors de contractions maximales, l'activité EMG diminue progressivement indiquant la présence de fatigue (Bigland-Ritchie et al. 1979, 1983). Cependant, la diminution de l'amplitude du signal EMG peut également être due à une perte de l'excitabilité musculaire (Fitts 1994). Une des limites de cette technique pouvant contaminer le signal RMS et ainsi donner une estimation erronée sur l'intensité de la commande volontaire, est le phénomène d'annulation du signal EMG ou « *amplitude cancellation* » qui correspond à l'annulation des phases positives et négatives des potentiels d'action, lorsqu'elles sont de mêmes amplitudes (Farina et al. 2004, 2010). Ainsi, le signal EMG ne peut pas être considéré comme le reflet parfait de l'activation nerveuse, puisqu'il sous-estime l'activation musculaire et cela à cause de la perte d'une partie du signal, d'où l'importance de l'associer à d'autres mesures. De plus, le phénomène de « *cross talk* », correspond lui à la contamination du signal EMG par l'activité électrique d'un muscle proche (Farina et al. 2004, 2010), et contribue également à une mauvaise interprétation (surestimation) du signal RMS. Par conséquent, la normalisation du signal RMS par l'amplitude de l'onde M, permet de s'affranchir en partie de ces limites méthodologiques.

3.3. Potentiel moteur évoqué

L'utilisation de la stimulation magnétique transcrânienne (TMS pour *Transcranial Magnetic Stimulation*) permet d'évaluer l'excitabilité corticospinale, voie par laquelle la commande motrice finale quitte les zones corticales (l'aire motrice primaire). Au sein de cette aire du cerveau sont logés les neurones pyramidaux, dont les axones forment la voie cortico-spinale. Cette aire, qui est donc le point de départ de la voie cortico-spinale principale, contient une véritable cartographie de la musculature striée squelettique. Cette cartographie est organisée selon un modèle bien connu, mis en avant par Penfield sous le nom de Homunculus (Penfield et Jasper 1954). La représentation corticale selon l'homunculus de Penfield est représentée à la Figure 16. La TMS est une technique dérivée de la stimulation électrique transcrânienne proposée par Merton et Morton (Merton et Morton 1980). Elle consiste à appliquer une stimulation magnétique sur l'aire motrice d'un muscle des membres supérieurs ou inférieurs, qui va induire une dépolarisation des neurones pyramidaux, permettant d'enregistrer une réponse électrophysiologique dans le muscle ciblé (Barker et al. 1985), appelée potentiel moteur évoqué (MEP), qui va permettre de renseigner sur l'excitabilité de l'ensemble de la voie cortico spinale.

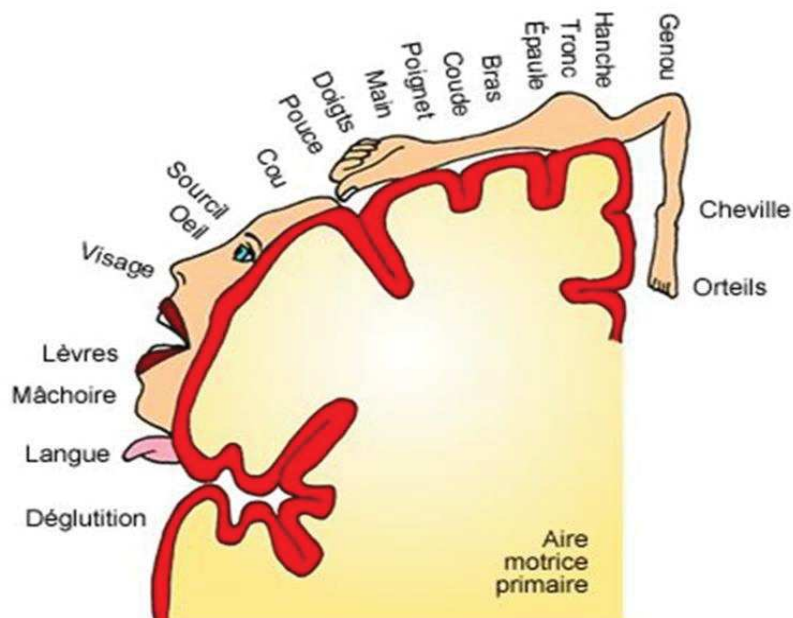


Figure 16. Représentation des zones corticales de l'aire motrice primaire

L'enregistrement des MEP à différentes intensités de stimulation va permettre de construire une courbe de recrutement (Figure 17). Cette courbe correspond à la relation entre l'intensité de stimulation et l'amplitude des MEP. Ainsi, l'augmentation de l'intensité de stimulation entraîne une augmentation de la taille du MEP, jusqu'à obtenir une réponse d'amplitude maximale (plateau).

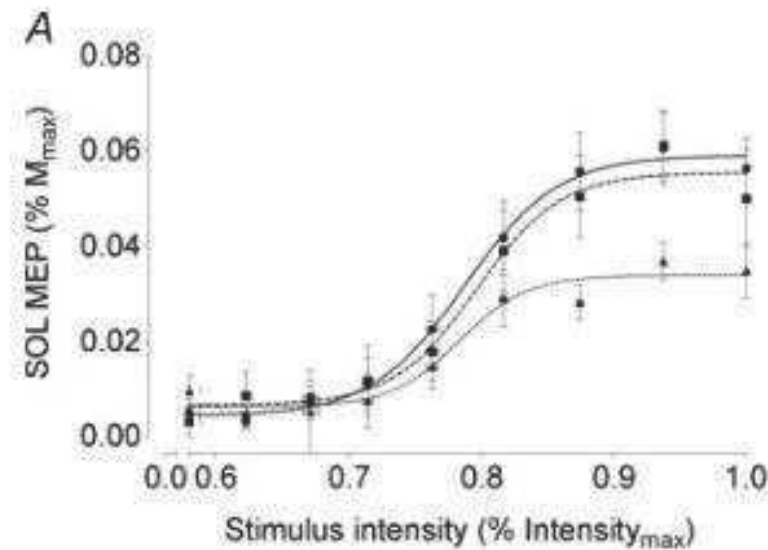


Figure 17. Exemple de courbes de recrutement de l'amplitude des MEP construites en fonction de l'intensité de stimulation, enregistrée pour le muscle soléaire, en condition isométrique, concentrique et excentrique. *D'après (Duclay et al. 2011).*

Le MEP peut être induit au repos ou lors d'une contraction. Lors d'une contraction, l'analyse de la période de silence permet d'évaluer les inhibitions intracorticales. Cette période de silence se traduit par une période d'EMG « plat » observable après le MEP (Figure 18). Sa durée peut se mesurer comme l'intervalle de temps entre l'artefact de stimulation et la reprise d'une activité EMG continue (Goodall, et al, 2018). La période de silence se révèle être ainsi un indice complémentaire à la taille du MEP et représenterait le niveau d'inhibition au niveau des aires motrices. Cette inhibition serait liée à l'activation d'interneurones inhibiteurs (Brasil-Neto et al. 1995; Werhahn et al. 1999).

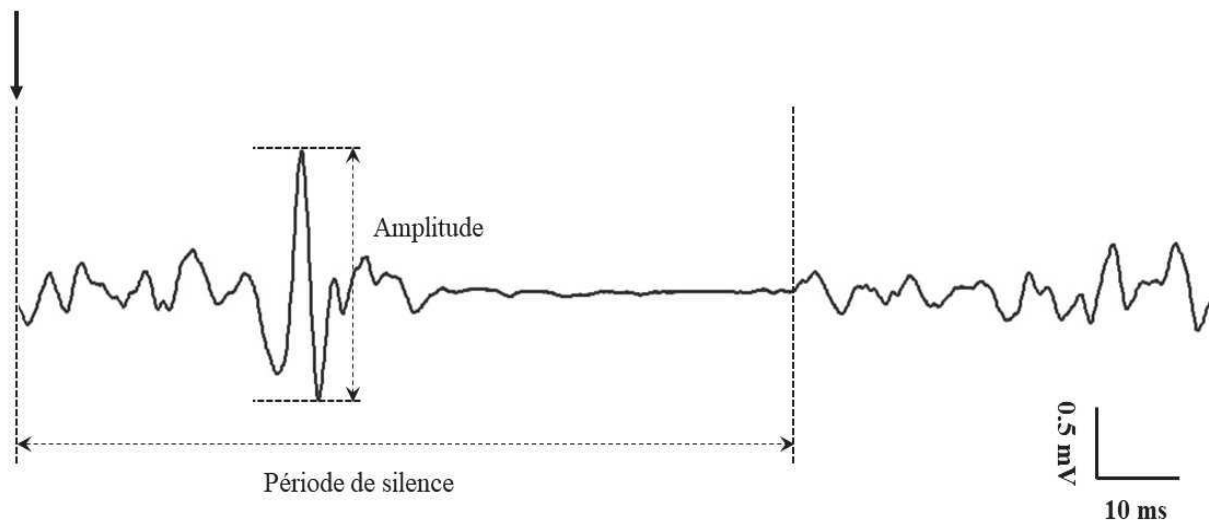


Figure 18. Enregistrement d'un potentiel moteur évoqué (MEP), pouvant être analysé par son amplitude et sa période de silence. La flèche indique la stimulation. *Données personnelles.*

Pour stimuler le cortex, il existe différents types de bobines en fonction de l'objectif souhaité et de la localisation des muscles ciblés. Les bobines plates circulaires permettent une stimulation profonde et assez étendue des tissus cérébraux. Destinées à stimuler de larges zones corticales, elles présentent de ce fait une limitation importante pour l'investigation d'aires corticales précises. La bobine en huit permet une stimulation plus focale et plus puissante au centre de la bobine (Groppa et al. 2012). Elle est utilisée notamment pour la stimulation des membres supérieurs, plus facilement atteignables au niveau des aires motrices. Enfin, la bobine conique permet d'atteindre des zones plus profondes, et par conséquent elle est utilisée pour l'étude des muscles des membres inférieurs tels que les quadriceps ou le soléaire (Kesar et al. 2018). C'est donc la bobine conique qui a été utilisée durant ce travail de thèse.

3.4. Le réflexe V

Le réflexe V est un indice pouvant refléter les modulations de la commande descendante qui arrive aux motoneurones alpha (Grosprêtre et Martin 2012). Il est évalué par une stimulation supramaximale délivrée au cours d'une CMV et accompagne l'onde Mmax surimposée (Figure 19). Ainsi, en contraction, le réflexe V résulte de la collision entre la propagation antidromique du potentiel d'action issu de la stimulation supramaximale du nerf moteur et la propagation

orthodromique des potentiels générés par la commande descendante volontaire laissant passer le signal des afférences sensorielles (McNeil et al. 2013).

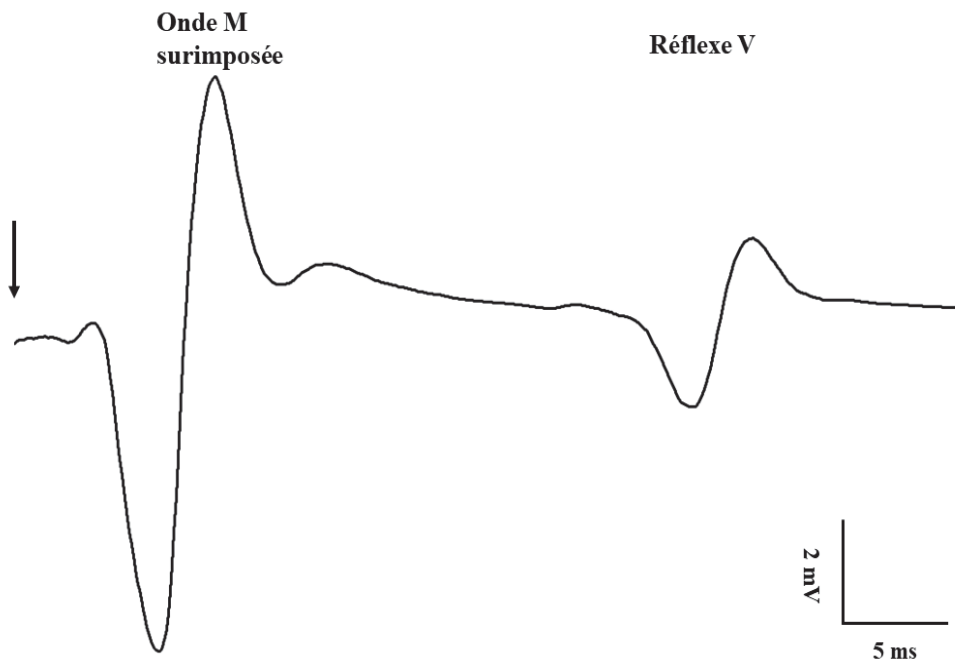


Figure 19. Enregistrement du réflexe V pendant une contraction. La flèche indique la stimulation. *Données personnelles.*

Afin de dissocier l'origine supraspinale et spinale des modifications survenant lors de la fatigue ou d'un entraînement, il convient de coupler les paramètres précédemment présentés avec des paramètres examinant les structures spinales. L'étude du réflexe de Hoffmann (réflexe H) peut être utilisée pour examiner l'excitabilité spinale.

3.5. Le réflexe H

Paul Hoffmann est le premier à décrire le réflexe H dans la littérature en 1910, lui donnant ainsi son nom (i.e Réflexe H). Le réflexe H est désormais reconnu comme étant une méthode d'évaluation du système neuromusculaire à l'étage spinal. En réalité, le réflexe H ne représente pas une boucle réflexe complète, mais plus précisément une composante d'un réflexe physiologique : le réflexe d'étirement. L'amplitude du réflexe H constitue un indice de l'excitabilité spinale (Pierrot-Deseilligny et Burke 2005). Le réflexe H est induit par une stimulation électrique percutanée de faible intensité au niveau du nerf moteur (Figure 20). A cette intensité de stimulation, les afférences sensorielles Ia dont le diamètre est plus important

(environ 20 μm) sont préférentiellement recrutées, avant les axones des motoneurones alpha de plus petit diamètre (environ 15 μm) (Erlanger et Gasser 1937; Pierrot-Deseilligny et Burke 2005). Ces afférences recruteront les motoneurones spinaux selon le principe de taille, c'est-à-dire du plus petit diamètre axonal au plus grand (Henneman et al. 1965). Il a ainsi été montré que les UM qui prédominaient dans le réflexe H étaient de type lentes, donc de petit diamètre axonal (Buchthal et Schmalbruch 1970; Nardone et Schieppati 1988). La latence du réflexe H est comprise entre 30 et 40 ms après l'artefact de stimulation selon la taille de sujets et le muscle étudié (Allum et Mauritz 1984).

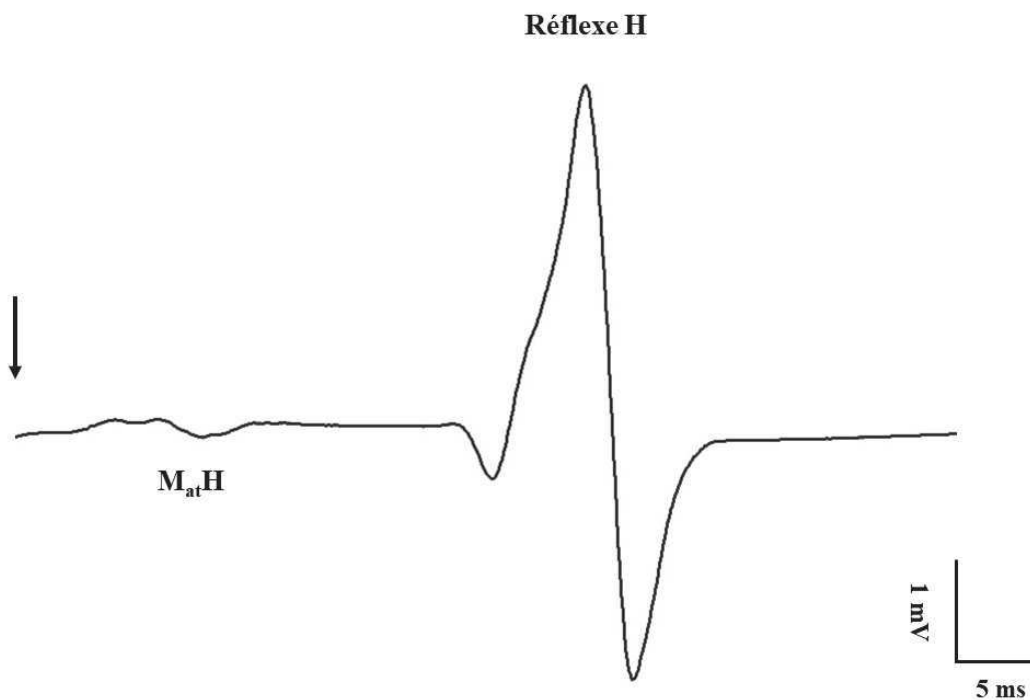


Figure 20. Enregistrement du réflexe H au repos. Le $M_{at}H$ correspond à l'onde M qui accompagne le réflexe H. La flèche indique la stimulation. *Données personnelles.*

En augmentant l'intensité de stimulation, l'amplitude du réflexe H va augmenter jusqu'à obtenir la réponse maximale (H_{max}). Elle représente l'intensité à partir de laquelle la collision antidromique commence à interférer. En augmentant l'intensité de stimulation, le seuil des axones des motoneurones alpha est atteint et la réponse musculaire directe, appelée onde M apparaît. Ainsi, à une intensité moyenne de stimulation, deux potentiels d'action sont générés. Le premier se propage de manière orthodromique en direction du muscle et donne naissance à l'onde M de courte latence (entre 4 et 15 ms), tandis que l'autre se propage de manière antidromique, vers la moelle épinière où il entre en collision avec la volée réflexe évoquée par les afférences la annihilant ainsi le réflexe H. De ce fait, l'augmentation de l'intensité de

stimulation provoque d'une part une réduction progressive de l'amplitude de la réponse réflexe H et d'autre part une augmentation de l'onde M jusqu'à son amplitude maximale, appelée Mmax. Ainsi, à intensité maximale, le réflexe H est totalement absent. En revanche, l'onde M augmente jusqu'à une valeur maximale qui finit par atteindre un plateau, suggérant que toutes les UM du muscle sont recrutées. L'enregistrement de ces deux réponses évoquées lors de l'augmentation de l'intensité de stimulation permet d'établir une courbe de recrutement des ondes H et M (Figure 21). Alors que l'évolution de l'onde H en fonction de l'intensité de stimulation décrit une courbe de type gaussienne, l'évolution de l'onde M quant à elle a une forme sigmoïdale.

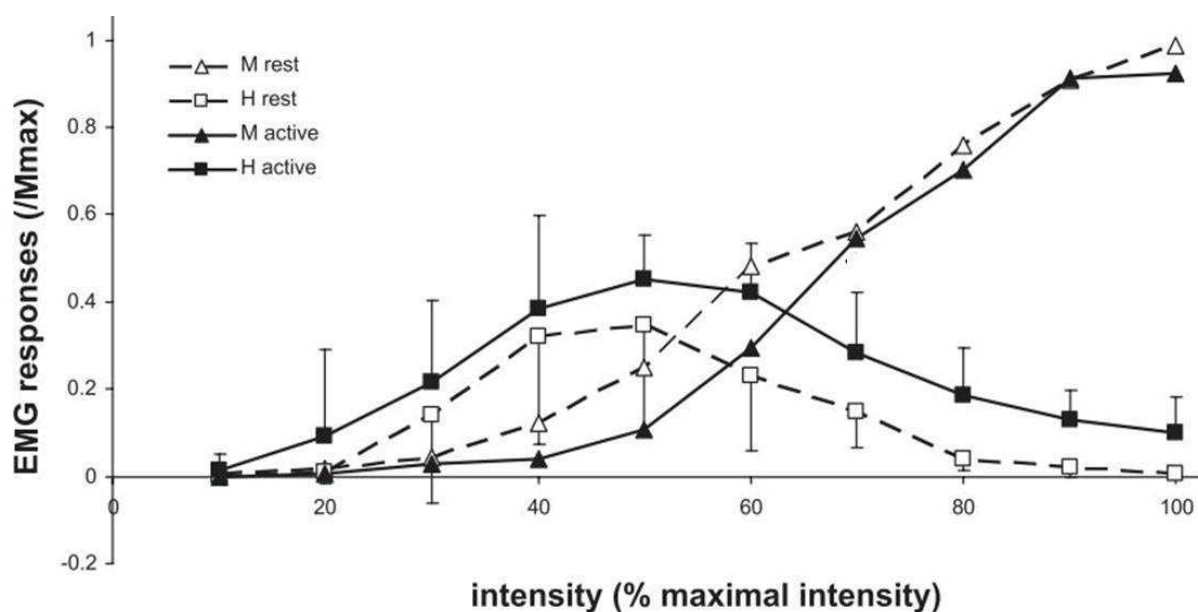


Figure 21. Exemple de courbes de recrutement pour le réflexe H (carré) et l'onde M (triangle) pour le muscle soléaire, au repos (en blanc) et en contraction (en noir). D'après (Grosprêtre et Martin 2012)

L'excitabilité spinale est étudiée via le rapport Hmax/Mmax qui a longtemps été considéré comme un indice permettant d'apprécier la proportion de motoneurones susceptibles d'être activés par voie monosynaptique (Schieppati 1987). Le fait d'enregistrer le réflexe H combiné aux techniques décrites précédemment, permet de distinguer l'origine spinale ou supraspinale des adaptations nerveuses. On quantifie également la réponse M associée à Hmax, appelée MatHmax, permettant de s'assurer de la reproductibilité des conditions de stimulation. Le ratio MatHmax/Mmax donne une indication quant à la proportion d'UM recrutées par voie directe.

Toutes les mesures électrophysiologiques présentées ci-dessus sont normalisées par l'onde Mmax. En effet, Kent-Braun a souligné l'importance de normaliser l'activité EMG obtenue

pendant une CMV (Kent-Braun 1999) par l'amplitude, l'aire ou la RMS de l'onde Mmax, indicateur de l'excitabilité musculaire (Fuglevand et al. 1993). Cette procédure de normalisation permet d'exclure toutes les modifications pouvant intervenir à la périphérie du système neuromusculaire pouvant influencer le signal EMG telles que l'altération de la transmission neuromusculaire. Nous obtenons ainsi les rapports suivants : RMS/Mmax, MEPmax/Mmax, V/Mmax et Hmax/Mmax.

Comme décrit précédemment, chaque technique possède des limites, c'est pour cela que l'interprétation de chaque paramètre ne se fait pas séparément. En revanche une analyse et une interprétation combinée de ces résultats permettent une complémentarité afin de conclure sur l'origine des adaptations survenues.

4. Entraînement par électrostimulation

En 1971, Yakov Kots a été le premier à utiliser l'électrostimulation comme méthode d'entraînement pour le renforcement musculaire. Depuis, de nombreuses études se sont intéressées à l'entraînement réalisé par électrostimulation. En effet, ces études ont montré un gain de force musculaire sur le biceps brachial (Miller and Thépaut-Mathieu 1993), le triceps sural (Gondin 2006; Maffiuletti et al. 2002; Martin et al. 1993), l'adducteur du pouce (Duchateau et Hainaut 1988) et le quadriceps (Currier et Mann 1983; Gondin et al. 2005; Herrero et al. 2006; Selkowitz 1985), hormis une étude (Owens et Malone 1983) (voir liste en annexe 1). Néanmoins, toutes ces études ont montré des gains de force hétérogènes qui s'étendent de 8% (Maffiuletti et al. 2002) à 45% (Selkowitz 1985; Ward et Shkuratova 2002). Ces différences de gain peuvent être expliquées par l'utilisation de différents paramètres de stimulation (la fréquence, la durée d'impulsion, l'intensité, le cycle de travail), les caractéristiques de l'entraînement (nombre de sessions) ou encore le groupe musculaire étudié. De plus, il est important de souligner que toutes ces études ont utilisé de hautes intensités de stimulation associées à de petites largeurs d'impulsions, en délivrant une stimulation par l'intermédiaire d'électrodes sur le muscle, favorisant ainsi un recrutement direct des UM via l'activation des axones moteurs.

Ces résultats ont poussé la communauté scientifique à s'interroger sur l'efficacité de l'électrostimulation par rapport à l'entraînement volontaire. S'il semble évident que ces deux méthodes permettent d'augmenter la force musculaire (Bax et al. 2005; Hainaut et Duchateau

1992), il est souvent difficile de les comparer en raison notamment de différences dans les protocoles d'entraînement utilisés (nombre de contractions, alternance phases de repos/phases de contraction, charge de travail). Chez le sujet sain, il semble que l'entraînement par électrostimulation ne permet pas d'obtenir des gains de force supérieurs à ceux engendrés par des sollicitations volontaires, bien qu'une étude ait prouvé le contraire (Colson et al. 2009). Néanmoins l'électrostimulation apparaît comme étant une méthode efficace pour augmenter la force musculaire et très complémentaire de l'entraînement en volontaire.

Plusieurs études ont suggéré que les améliorations de la force après un entraînement en électrostimulation pouvaient être engendrées par des adaptations nerveuses. En effet, suite à un entraînement isométrique de 4 semaines par électrostimulation, les gains de force étaient plus importants à la position angulaire d'entraînement (Martin et al. 1993), spécificité qui est classiquement attribuée à des adaptations nerveuses (Thépaut-Mathieu et al. 1988). Une autre étude a mis en évidence, suite à un entraînement unilatéral en électrostimulation du muscle quadriceps, une augmentation significative de la force sur le quadriceps controlatéral (Hortobágyi et al. 1999), confirmant l'hypothèse d'adaptations nerveuses. Maffiuletti et ses collègues ont également rapporté que l'augmentation de 8% de la force musculaire après 4 semaines d'entraînement par électrostimulation sur les muscles fléchisseurs plantaires était associée à une augmentation de l'activité électrique du muscle soléaire et du niveau d'activation volontaire (Maffiuletti et al. 2002). Ces résultats ont été reproduits par Gondin qui a observé une augmentation de la force musculaire de 22% sur les muscles fléchisseurs plantaires après un entraînement de 5 semaines, associée à des adaptations nerveuses telles qu'une amélioration du niveau d'activation volontaire, de l'activité EMG et du réflexe V sans modification de l'excitabilité spinale, suggérant des adaptations survenant plutôt au niveau supraspinal (Gondin 2006). Jusqu'à présent aucune étude n'a montré d'adaptations survenant au niveau spinal.

Au-delà de ces adaptations nerveuses, l'augmentation de la force musculaire après un entraînement par électrostimulation peut également être attribuée à des modifications survenant au niveau du muscle. Des études ont montré une hypertrophie musculaire d'environ 10% après 8 à 9 semaines d'entraînement (Ruther et al. 1995; Stevenson et Dudley 2001), tandis que d'autres études n'en ont pas observé après des périodes d'entraînements plus courtes (4 semaines) (Martin et al. 1993). De plus, Gondin et ses collègues ont rapporté une augmentation de la surface de section anatomique et de l'angle de pennation après 8 semaines d'entraînement réalisé sur le quadriceps (Gondin et al. 2005). L'augmentation de l'angle de pennation

permettrait de stocker davantage de matériel contractile le long du tendon et pourrait ainsi contribuer à l'augmentation de la force musculaire après l'entraînement (Allen et Westerblad 2001).

Les améliorations de la force après un entraînement en électrostimulation sont étroitement liées au niveau de force évoqué pendant les sessions d'entraînement (Maffiuletti 2010). Ainsi, la plupart des études ont utilisé une intensité maximale tolérée pour générer des contractions musculaires relativement fortes (Gondin 2006; Gondin et al. 2005; Maffiuletti et al. 2002). Bien que ces modalités de stimulation se soient révélées efficaces pour induire des gains de force, attribués à des adaptations nerveuses et musculaires, elles présentent l'inconvénient d'induire un inconfort important, provoqué par l'utilisation d'intensités de stimulation élevées.

Ainsi, dans l'optique de minimiser ces inconvénients, une étude récente a évalué les effets d'un entraînement en électrostimulation en appliquant un protocole WPHF, utilisant de faibles intensités de stimulation (Neyroud et al. 2019). Le protocole consistait à réaliser 9 sessions d'électrostimulation, comprenant chacune 10 contractions de 20 secondes, délivrées à 100 Hz, à une largeur d'impulsion de 1 ms, pour une intensité correspondant à 5% de la CMV. Les résultats n'ont pas montré d'amélioration significative de la force et par conséquent aucune adaptation neuromusculaire associée (Neyroud et al. 2019). Au-delà du fait que le nombre de contractions par séance, et le nombre de séances puissent paraître légèrement insuffisants pour induire une augmentation de la force musculaire, une autre hypothèse que nous pouvons émettre afin d'expliquer cette absence d'augmentation significative de la force avec l'utilisation de protocole WPHF serait que ce protocole a été induit par une stimulation sur le muscle. Or comme il a été démontré précédemment cette modalité de stimulation ne maximise pas le retour afférent et ne favorise donc pas le recrutement indirect des UM.

Ainsi l'objectif de cette seconde étude était d'observer les effets d'un protocole d'entraînement en électrostimulation sur les gains de force et les adaptations nerveuses qui en découlent. Ces protocoles associent de grandes largeurs d'impulsions et de faibles intensités de stimulation et étaient appliqués sur le nerf tibial. De plus, deux fréquences de stimulation ont été testées (20 et 100 Hz) afin de pallier une éventuelle diminution de la force due aux changements de l'excitabilité des axones moteurs.

5. Contribution expérimentale

**Gains de force et adaptations nerveuses après un
entraînement en électrostimulation à faible intensité
délivré au niveau du nerf moteur**

*Torque gains and neural adaptations following low intensity
motor nerve electrical stimulation training*

Florian Vitry, Alain Martin, Maria Papaiordanidou

Publié dans *Journal of Applied Physiology* (2019)

RESEARCH ARTICLE

Torque gains and neural adaptations following low-intensity motor nerve electrical stimulation training

 Florian Vitry, Alain Martin, and Maria Papaioordanidou

INSERM UMR1093-CAPS, Université Bourgogne Franche-Comté, UFR des Sciences du Sport, F-21000, Dijon, France

Submitted 22 July 2019; accepted in final form 17 September 2019

Vitry F, Martin A, Papaioordanidou M. Torque gains and neural adaptations following low-intensity motor nerve electrical stimulation training. *J Appl Physiol* 127: 1469–1477, 2019. First published September 23, 2019; doi:10.1152/jappphysiol.00513.2019.—The purpose of the study was to assess neural adaptations of the plantar-flexors induced by an electrical stimulation training applied over the motor nerve at low intensity using two different stimulation frequencies. Thirty subjects were randomly assigned into 3 groups: 20 Hz, 100 Hz, and control group. The training consisted of 15 sessions of 25 stimulation trains applied over the tibial nerve and delivered at an intensity evoking 10% maximal voluntary isometric contraction (MVIC). Before and after training, MVIC was assessed and neural adaptations were evaluated by the voluntary activation level (VAL) and the V-wave (normalized by the superimposed muscle compound action potential, V/M_{SUP}). H-reflex and motor-evoked potential (MEP) recorded during MVIC were studied to assess spinal and corticospinal excitabilities [i.e., maximal H-reflex during maximal voluntary isometric contraction (H_{SUP}/M_{SUP}) and maximal motor-evoked potential during maximal voluntary isometric contraction (MEP_{SUP}/M_{SUP})]. MVIC significantly increased after training only for the two training groups ($P = 0.017$). This increase was accompanied by a significant increase of VAL only for these groups ($P = 0.014$), whereas statistical analysis revealed a time effect for V/M_{SUP} ($P = 0.022$). H_{SUP}/M_{SUP} and MEP_{SUP}/M_{SUP} were significantly increased at post conditions only for the 100 Hz group ($P = 0.021$ and $P = 0.029$). Results show that low-intensity electrical stimulation training applied over the motor nerve can induce torque gains, accompanied by neural adaptations. Stimulation frequency differentially affected spinal and corticospinal excitabilities, indicating that neural adaptations could have a supraspinal origin for the 20-Hz protocol, whereas spinal and supraspinal mechanisms were implicated in the torque increases after the 100-Hz training.

NEW & NOTEWORTHY This study brings new insights into the neurophysiological mechanisms responsible for torque gains after electrical stimulation training using wide pulse duration and low stimulation intensity applied over the motor nerve. Stimulation frequency had a distinct impact on spinal and/or supraspinal origins of the observed neural adaptations. The use of the aforementioned stimulation parameters in rehabilitation settings can be proved beneficial in terms of strength gains while avoiding any serious discomfort because of stimulation.

extra torque; H-reflex; MEP; training; voluntary activation level

INTRODUCTION

Neuromuscular electrical stimulation (NMES) consists of evoking contractions by applying an electrical current over the muscle or nerve via surface electrodes. This technique is essentially used in rehabilitation and training programs, allowing for recovering and improving skeletal muscle mass and function (22). Classically, NMES training protocols consist of short pulse durations ($<400 \mu s$) and high frequencies (>80 Hz) while they are mainly applied over the muscle surface (8, 11, 14). Because the torque improvements after an NMES training program are related to the torque level evoked during repeated stimulation trains (22), most of the studies using NMES training with the aim to improve muscle strength applied a maximal tolerated intensity to generate relatively strong muscle contractions (8, 11, 14). Despite the fact that these stimulation modalities have been proven effective in inducing strength gains, attributed in part to neural adaptations (10, 23), they provoke excessive discomfort caused by the use of high stimulation intensities and fatigue development (33) because of a nonphysiological motor unit (MU) recruitment [for review, see Gregory and Bickel (12)], limiting the clinical application of NMES.

A new stimulation paradigm combining wide pulse durations (1 ms) with high stimulation frequencies (>80 Hz) delivered at low stimulation intensities [evoking 5%–10% of maximal voluntary isometric contraction (MVIC)] has been proposed to counterbalance these limitations (6, 7). Low stimulation intensities in combination with long pulse durations favor recruitment of sensory axons, as they present a higher strength-duration time constant than motor axons (19), resulting in an indirect MU recruitment by the afferent volley (2, 9). This indirect MU recruitment gives rise to higher torques from what would be expected from the direct recruitment of motor axons (i.e., extra torque) because of the central contribution to the evoked torque (6, 7). The reflex activation of spinal motoneurons and their contribution to torque generation likely proceed to a more physiological MU recruitment (1, 7, 20) following the Henneman's size principle (13), whereas they have been shown to be maximized by nerve stimulation as compared with NMES applied over the muscle belly (2).

Although the use of these stimulation modalities may be promising for rehabilitation of subjects presenting motor deficiencies, their impact on the neuromuscular system after a chronic application (i.e., training) has rarely been investigated. Despite the fact that low stimulation intensities likely weaken the training benefits induced by such a stimulation paradigm, the presence of extra torque may counteract this limitation.

Address for reprint requests and other correspondence: Florian Vitry, INSERM U1093 "Cognition, Action et Plasticité Sensorimotrice," Université de Bourgogne - UFR STAPS, Campus Universitaire, BP 27887 Dijon, France (e-mail: florian.vitry@u-bourgogne.fr).

Indeed, a recent study using these new modalities failed to observe significant effects on torque or any other neural adaptations (26) after nine NMES sessions of wide pulse duration, high stimulation frequency, and low intensity (5% MVIC), but applied over the muscle belly. The location of stimulation (application of NMES over the muscle belly) may be the origin of the absence of significant effects, as this stimulation location does not favor the indirect MU recruitment, which seems a prerequisite for the reflex activation of motoneurons (35).

The aim of the present study was to examine the effects of chronic application of these NMES training modalities. Wide pulse duration, low stimulation intensity, and nerve stimulation were used to maximize the central contribution to the evoked torque. To cope with eventual torque declines during the NMES training sessions observed during high stimulation frequencies (25, 29) that may be due to activity-dependent changes in the excitability threshold of the activated axons (5, 18, 34), 2 different frequencies, 20 and 100 Hz, were tested. We hypothesized that both protocols would induce torque increases but that stimulation frequency would have an impact on the origin of these torque gains. Indeed, the higher rate at which neural feedback arrives at the spinal cord during high stimulation frequencies (3) led us to hypothesize that spinal contribution to neural adaptations would be more important after the 100-Hz training protocol.

METHODS

Subjects

Thirty healthy young adults [23.3 yr (SD 6.9), 177 cm (SD 8.3), 71.6 kg (SD 10.4)] gave written informed consent to participate in the present study. All subjects were physically active, but none of them was engaged in any other supervised strength or endurance training program. They were instructed to continue their regular physical activity during the whole duration of the experiment. All participants had no history or current clinical signs of neurological and physical disorders. The study was approved by the scientific committee of the Faculty of Sport Sciences, University of Burgundy in Dijon, and was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki for human experimentation.

Experimental Design

Participants were randomly distributed into 3 groups: the 20 Hz group [8 men and 2 women, 22.3 yr (SD 3.2), 179.1 cm (SD 8.6), 73.0 kg (SD 9.3)], 100 Hz group [7 men and 3 women, 22.7 yr (SD 6.4), 174.3 cm (SD 7.8), 68.2 kg (SD 8.6)] and control group [CONT, 8 men and 2 women, 24.9 yr (SD 9.9), 177.7 cm (SD 8.4), 73.6 kg (SD 14.3)]. All subjects participated in an initial familiarization session consisting of plantar-flexors MVIC to get accustomed with peripheral nerve stimulation and transcranial magnetic stimulation (TMS) techniques used during the experiment. The 2 training groups (20 and 100 Hz) carried out a NMES training protocol composed of 15 sessions (5-wk duration), whereas the CONT group did not perform any NMES training. Before (pretest) and after (post-test) the 5-wk period, subjects of all groups participated in the testing sessions.

Testing sessions. Testing sessions were organized as follows: After a warm-up, including 8–10 submaximal contractions, recruitment curves were performed at rest to determine triceps surae maximal H-reflex (H_{MAX}), maximal M-wave (M_{MAX}), and maximal motor-evoked potential (MEP; MEP_{MAX}) intensities. After these recruitment curves, 6 plantar-flexors MVIC of 4–5 s were performed with a superimposed stimulation at each previously identified stimulation intensity (random order, 2 MVIC per intensity) to record the superimposed H-reflex (H_{SUP}), superimposed M-wave (M_{SUP}) with asso-

ciated V-wave, and superimposed MEP (MEP_{SUP}) for soleus (SOL), gastrocnemius lateralis (GL), and gastrocnemius medialis (GM) muscles. Potentiated twitch responses at each stimulation intensity were also evoked 5 s after MVIC. Visual feedback (instantaneous torque-time traces displayed on a computer screen) and strong verbal encouragement were provided throughout MVIC by the experimenters.

Training sessions. During the training sessions, the posterior tibial nerve was electrically stimulated in the popliteal fossa (see *Peripheral nerve stimulation*). The training program consisted of 15 sessions (3 sessions per week) of 25 stimulation trains (20 s ON, 20 s OFF). Pulse duration was 1 ms and, according to the training group, stimulation frequency was 20 or 100 Hz. Stimulation intensity was set to evoke an initial torque level corresponding to 10% MVIC and was determined at the beginning of each session with a train lasting 2 s, delivered at the corresponding frequency. Across all sessions, this intensity varied between 6.4 and 27.5 mA [mean: 12.2 mA (SD 6.4)] for the 20 Hz group and between 4.8 and 19.3 mA [mean: 11.2 mA (SD 4.7)] for the 100 Hz group. During the training period, MVIC was reassessed at the beginning of each week to re-evaluate the 10% MVIC target torque.

Experimental Procedures

Torque recording. Voluntary and evoked torques developed by the plantar-flexors during the testing sessions as well as during each training session were recorded using an isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY). Participants were comfortably seated on the chair of the dynamometer with the right foot securely strapped to the pedal at ankle level. The dynamometer's axis of rotation was aligned with the anatomical plantar- and dorsi-flexion axis of the ankle joint. The ankle angle was set at 90°, and the knee joint was at 110° (180° full extension). This configuration was kept constant throughout the entire protocol (training and testing sessions).

Electromyographic recording. Electromyographic activity (EMG) was recorded from four muscles of the right leg: SOL, GL, GM, and tibialis anterior (to verify for inadvertent activation of this muscle during posterior tibial nerve stimulation). After shaving, abrading, and dry cleaning the skin with alcohol to get low impedance (<5 k Ω), EMG signals were obtained using silver-chloride circular (7-mm recording diameter) surface electrodes (Contrôle Graphique Medical, Brie-Comte-Robert, France), placed with an interelectrode center-to-center distance of 2 cm. For SOL, electrodes were placed 2 cm below the insertion of the 2 gastrocnemii over the Achilles tendon. For GL and GM muscles, electrodes were placed over the muscle belly, whereas for tibialis anterior, they were placed at the upper third of the distance between the fibula head and the tip of the lateral malleolus. The common reference electrode was placed in a central position between the stimulation and recording sites between upper-gastrocnemii insertions. EMG signals were amplified (gain 1000), filtered (10 Hz – 5 kHz) and collected with a sampling frequency of 10 kHz. Torque and EMG data were recorded with Biopac Software (Biopac MP150, Biopac System Inc.).

Peripheral nerve stimulation. The posterior tibial nerve was electrically stimulated in the popliteal fossa to elicit electrophysiological responses of the right triceps surae muscles. Monophasic rectangular pulses (1 ms pulse) were delivered using a Digitimer stimulator (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, UK) triggered by a commercially available software (Tida, HEKA Elektronik, Lambrecht/Pfalz, Germany). The anode (5 $\times$ 10 cm, Compex SA, Ecublens, Switzerland) was placed over the patella, and the stimulation electrode (a self-adhesive electrode with 30-mm diameter, Dura-Stick Plus, DJO Global, Vista, CA) was firmly fixed in the popliteal fossa using straps after identification of the optimal stimulation site (highest SOL H-reflex amplitude for a low intensity). The intensity of stimulation was increased from H-reflex threshold (first reflex response of the triceps surae muscles, whatever the muscle) to M_{MAX} of the 3 muscles with 4-mA increments. The intensity at which the highest sum of the M-waves of the 3 muscles plateaued (triceps surae M_{MAX}) was further

increased by at least 20% (supramaximal intensity). Subsequently, the triceps surae H_{MAX} stimulation intensity was determined using 2-mA increments applied around the intensity at which the highest sum of the H-reflexes of the three muscles was previously obtained. Figure 1, A–D depicts representative H-reflex and M-wave recruitment curves with the identified stimulation intensities. For these recruitment curves, 4 stimulations were delivered at each intensity every 10 s. Particular care was taken in monitoring the posture and head rotations of the subject during this procedure to maintain constant cortico-vestibular influences on the excitability of the motor pool (30).

TMS. Concerning MEP recordings, methodological recommendations proposed by Kesar et al. (16) have been followed. During the testing sessions, TMS was delivered using a conical coil positioned over the motor cortex to elicit MEP on muscles of the right triceps

surae in response to magnetic stimulation (Magstim 200², Whitland, Dyfed, UK). To facilitate the identification of the optimal stimulation site, subjects were asked to perform a submaximal plantar-flexion (20% MVIC) with the aid of visual feedback (28). The location of the stimulation site allowing the highest SOL MEP amplitude for the lowest stimulation intensity was identified and then marked by fixing a piece of scotch on the head. The coil was secured in place throughout the testing session with an orientation permitting anterior-posterior direct current stimulation to the cortex. To identify maximal motor-evoked potential (triceps surae MEP_{MAX}) intensity, MEP recruitment curve of the triceps surae was performed at rest. Stimulation intensity was increased by 5% increments of the maximal stimulator output, from MEP initial appearance (first MEP response of the triceps surae muscles, whatever the muscle) until maximal MEP amplitude of

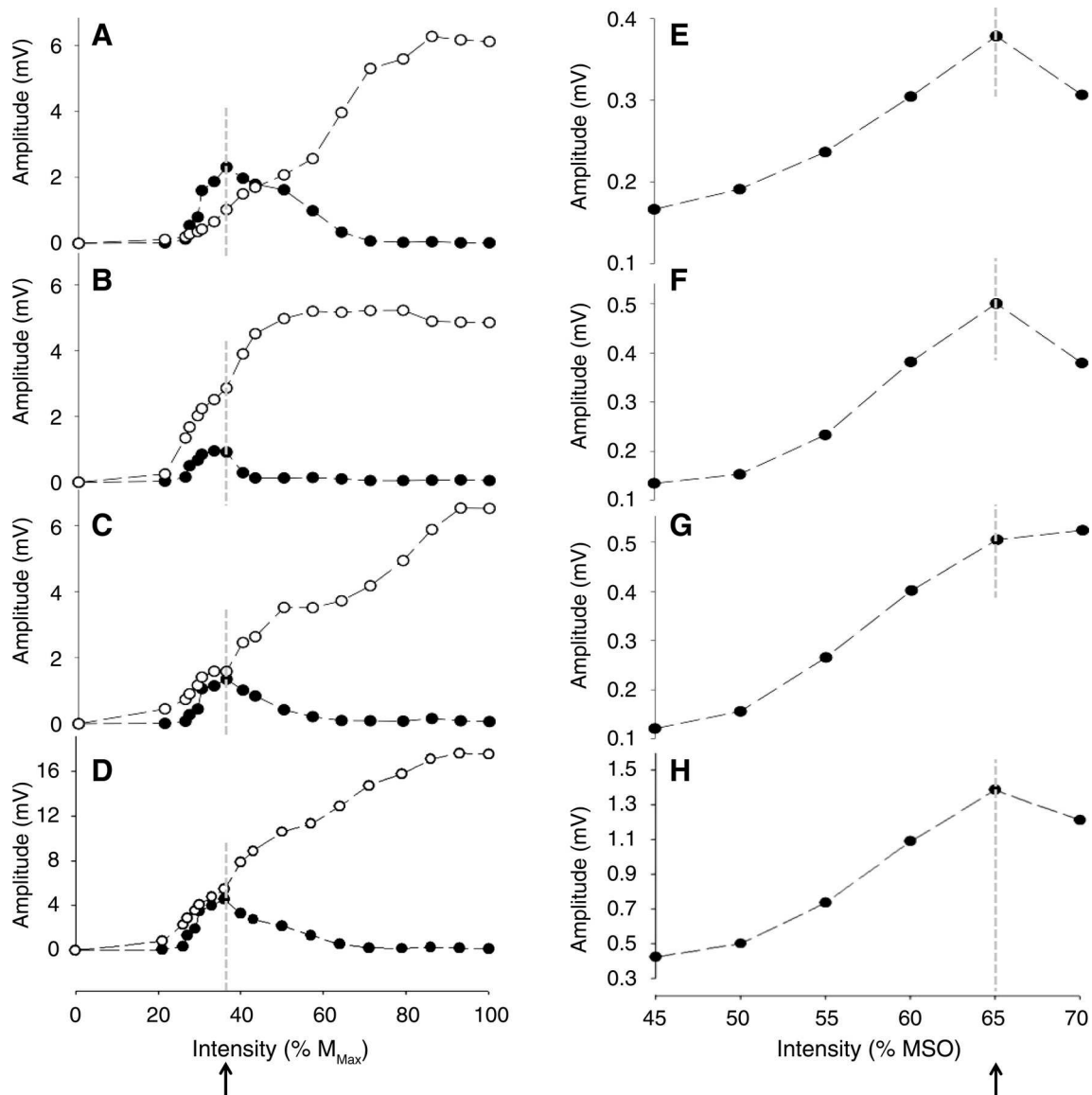


Fig. 1. Recruitment curves obtained at rest for a representative subject. H-reflex (closed circles) and M-wave (open circles) recruitment curve for soleus (A), gastrocnemius lateralis (B), gastrocnemius medialis (C), and triceps surae (D). Motor-evoked potential (MEP) recruitment curve for soleus (E), gastrocnemius lateralis (F), gastrocnemius medialis (G), and triceps surae (H). Arrows indicate the intensity used during the testing sessions to elicit maximum H-reflex at rest (H_{MAX}), maximum H-reflex during maximal voluntary isometric contraction (H_{SUP}), maximum motor-evoked potential at rest (MEP_{MAX}), and maximum motor-evoked potential during maximal voluntary isometric contraction (MEP_{SUP}) of the triceps surae, whereas supramaximal intensity was considered at least 20% after maximal M-wave (M_{MAX}) plateau (not presented on the graph). Triceps surae values correspond to the sum of soleus, gastrocnemius lateralis, and medialis responses. Although the stimulation intensity used did not evoke maximal response to all muscles (e.g., B and G), it elicited the maximal sum of the three responses. MSO, maximal stimulation output.

the three muscles. For this recruitment curve, 3 stimulations were delivered at each intensity every 10 s. In Fig. 1, *E–H*, an example of MEP recruitment curves for SOL, GL, GM, and the triceps surae as a whole (sum of the responses of the 3 muscles) is represented.

Data Analysis

Torque analysis. Torque evoked during MVIC and the stimulation trains as well as the amplitude of the two potentiated twitches associated with M_{MAX} (Pt) were recorded and analyzed offline. The mean value of the six MVIC (peak-to-peak amplitude) and the mean value of the two twitches were considered.

During MVIC, the voluntary activation level (VAL) was also estimated according to the modified version of the VAL formula proposed by Strojnik and Komi (32):

$$\text{VAL}(\%) = \{1 - [\text{superimposed twitch} \times (\text{MVIC at stimulation} / \text{MVIC})] / \text{potentiated twitch}\} \times 100$$

For all stimulation trains of each training session, the real value of the torque-time integral (TTIr) was calculated. It corresponded to the integral of the entire 20-s period. Because the phenomenon of extra torque (ET) can be observed (a progressively increasing torque output that arises in addition to what would be expected from the direct response to motor axon stimulation) during stimulation trains (6, 7), the theoretical value of torque-time integral (TTIth) was also estimated for each first stimulation train of each session. This corresponded to the integral of the first 2 s of the torque plateau multiplied by 10 and expresses the torque-time integral (TTI) that would be theoretically developed during this first train without the presence of ET, fatigue, or changes in the excitability threshold of motor axons. The TTIr/TTIth ratio was calculated to evaluate the presence or not of ET (ET corresponds to TTIr/TTIth > 1) (35). Finally, the sum of the TTI (Σ TTI) developed during the 15 training sessions by each subject was calculated to obtain the total muscle work for each training group.

EMG data. Considering that SOL, GL, and GM concomitantly contribute to a unique mechanical response of the triceps surae, we chose to express the aforementioned electrophysiological data as the sum of the responses of the three muscles constituting the triceps surae. Data for each muscle can be found in Table 1. The sum of the peak-to-peak amplitudes of M_{MAX} , H_{MAX} , MEP_{MAX} , M_{SUP} , H_{SUP} , MEP_{SUP} , and V-wave of the three triceps surae muscles (SOL + GL + GM) was calculated. These parameters were normalized with respect to the sum of the M_{MAX} and M_{SUP} of the three muscles and the ratios $H_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$, $H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$, $\text{MEP}_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$, $\text{MEP}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$, and V-wave (V)/ M_{SUP} were calculated to evaluate spinal and corticospinal excitabilities as well as voluntary drive of the triceps surae muscle as a whole. Moreover, the $\text{MEP}_{\text{MAX}}/H_{\text{MAX}}$ and $\text{MEP}_{\text{SUP}}/H_{\text{SUP}}$ ratios were calculated to evaluate the relative changes between corticospinal and spinal modulations. The sum of the amplitudes of the M-wave accompanying H_{MAX} and H_{SUP} of the three muscles was also measured and normalized with respect to the sum of M_{MAX} and M_{SUP} , respectively, to verify constant stimulation conditions [M -wave associated with H_{MAX} ($\text{MatH}_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$) and M -wave associated with superimposed H-reflex ($\text{MatH}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$)] between pre and post-tests. For the two MVICs with superimposed supramaximal twitch, EMG activity of the three muscles of the right triceps surae was quantified by the root mean square (RMS) value of the raw signal at a 500-ms interval before the superimposed supramaximal twitch. The sum of the RMS value of the three triceps surae muscles (SOL + GL + GM) was calculated and then normalized with respect to the sum of the M_{SUP} ($\text{RMS}/M_{\text{SUP}}$).

Statistical analysis. All data are expressed as mean and SD in text and tables and as mean and SE in figures. The normality of data distribution was verified by the Shapiro–Wilk test, whereas homogeneity of variances was tested with Levene’s test to ensure that a parametric ANOVA test could be used. A one-way ANOVA test was performed to assess differences between prevalues of each group for

Table 1. Electrophysiological responses of the three triceps surae muscles obtained during PRE and POST measurements for the three groups

	20 Hz		100 Hz		Control	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
SOL						
$H_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$	0.30 (0.17)	0.39 (0.21)	0.25 (0.17)	0.30 (0.19)	0.42 (0.25)	0.41 (0.26)
$H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}^*$	0.44 (0.20)	0.48 (0.21)	0.37 (0.18)	0.54 (0.18)	0.44 (0.18)	0.46 (0.21)
$\text{MEP}_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$	0.025 (0.012)	0.021 (0.013)	0.018 (0.012)	0.017 (0.010)	0.031 (0.015)	0.031 (0.025)
$\text{MEP}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$	0.145 (0.075)	0.139 (0.051)	0.151 (0.093)	0.189 (0.103)	0.121 (0.055)	0.126 (0.036)
V/M_{SUP}^{**}	0.20 (0.11)	0.29 (0.15)	0.20 (0.11)	0.27 (0.14)	0.20 (0.16)	0.22 (0.09)
$\text{RMS}/M_{\text{SUP}}^*$	0.019 (0.007)	0.023 (0.015)	0.019 (0.008)	0.029 (0.017)	0.020 (0.007)	0.021 (0.008)
GL						
$H_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$	0.12 (0.07)	0.12 (0.09)	0.11 (0.09)	0.22 (0.21)	0.20 (0.15)	0.19 (0.14)
$H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$	0.28 (0.14)	0.32 (0.13)	0.22 (0.15)	0.34 (0.16)	0.31 (0.14)	0.30 (0.14)
$\text{MEP}_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$	0.060 (0.036)	0.054 (0.047)	0.039 (0.041)	0.056 (0.046)	0.075 (0.038)	0.072 (0.034)
$\text{MEP}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$	0.213 (0.115)	0.266 (0.128)	0.213 (0.132)	0.316 (0.171)#	0.243 (0.061)	0.224 (0.061)
V/M_{SUP}^*	0.15 (0.10)	0.23 (0.15)	0.15 (0.06)	0.20 (0.12)	0.19 (0.14)	0.19 (0.15)
$\text{RMS}/M_{\text{SUP}}^*$	0.023 (0.008)	0.030 (0.018)	0.025 (0.011)	0.034 (0.019)	0.023 (0.007)	0.022 (0.007)
GM						
$H_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$	0.14 (0.08)	0.15 (0.08)	0.20 (0.16)	0.17 (0.13)	0.18 (0.10)	0.17 (0.10)
$H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$	0.36 (0.19)	0.41 (0.18)	0.26 (0.14)	0.41 (0.20)	0.30 (0.11)	0.30 (0.15)
$\text{MEP}_{\text{MAX}}/M_{\text{MAX}}$	0.051 (0.027)	0.038 (0.018)	0.047 (0.034)	0.052 (0.060)	0.096 (0.076)	0.075 (0.040)
$\text{MEP}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$	0.263 (0.109)	0.207 (0.052)	0.222 (0.097)	0.303 (0.163)	0.233 (0.079)	0.243 (0.079)
V/M_{SUP}	0.21 (0.15)	0.28 (0.14)	0.21 (0.11)	0.24 (0.16)	0.17 (0.13)	0.17 (0.12)
$\text{RMS}/M_{\text{SUP}}$	0.022 (0.010)	0.025 (0.013)	0.027 (0.013)	0.034 (0.010)	0.022 (0.007)	0.022 (0.008)

Data are means (SD). A 2-way ANOVA test (group $\times$ time) was performed for values of each muscle. GL, gastrocnemius lateralis; GM, gastrocnemius medialis; H_{MAX} , maximum H-reflex at rest; H_{SUP} , maximal H-reflex during maximal voluntary isometric contraction; MEP_{MAX} , maximal motor-evoked potential at rest; MEP_{SUP} , maximal motor-evoked potential during maximal voluntary isometric contraction; M_{MAX} , maximal M-wave at rest; M_{SUP} , maximal M-wave during maximal voluntary isometric contraction; POST, after training; PRE, before training; RMS, root mean square; SOL, soleus; V, V-wave * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, significant time effect, post-test values higher than pretest values (all groups included); # $P < 0.05$, significant interaction (time $\times$ group) effect, post-test values higher than pretest values only for the 100-Hz group. Sample sizes are the following: 20 Hz, $n = 10$; 100 Hz, $n = 10$; CONT, $n = 10$.

all tested parameters. A two-way ANOVA test (group $\times$ time) was conducted for mechanical data (MVIC, Pt, VAL) and evoked responses of the sum of the three muscles of the triceps surae (H_{MAX}/M_{MAX} , H_{SUP}/M_{SUP} , MEP_{MAX}/M_{MAX} , MEP_{SUP}/M_{SUP} , V/M_{SUP} , RMS/M_{SUP} , MEP_{MAX}/H_{MAX} , MEP_{SUP}/H_{SUP} , M_{MAX} , M_{SUP} , $Math_{MAX}/M_{MAX}$, and $Math_{SUP}/M_{SUP}$). A two-way ANOVA test (group $\times$ time) with time as a repeated measure was performed to evaluate MVIC evolution during the training for the two training groups. A significance level of $P < 0.05$ was accepted for all analyses. When a significant main or interaction effect was observed, the honestly significant difference Tukey post-hoc test was performed. A t test analysis was used for the ΣTTI developed during the training sessions, whereas correlation between selected variables was tested with Pearson coefficient. Effect sizes were calculated and are reported as partial eta squared (η_p^2) with small, moderate, and large effects considered for $\eta_p^2 \geq 0.01$, ≥ 0.07 , and ≥ 0.14 , respectively. Cohen's d values are reported with small, moderate, and large effects considered for $d \geq 0.2$, ≥ 0.5 , and ≥ 0.8 , respectively. All statistical tests were performed using Statistica software (version 7.1, StatSoft, Tulsa, OK), except the Cohen's effects size that was calculated with G*Power software (version 3.1.9, Universität Düsseldorf, Germany).

RESULTS

The one-way ANOVA test revealed no differences in pre-values between the 3 groups, except for Pt ($F_{2,27} = 6.66$, $P = 0.004$, $\eta_p^2 = 0.321$), with prevalues of the CONT group being higher than those of the 20 ($P = 0.017$) and 100 Hz groups ($P = 0.006$).

The two-way ANOVA test performed for plantar-flexors MVIC showed a significant interaction effect (group $\times$ time, $F_{2,27} = 4.72$, $P = 0.017$, $\eta_p^2 = 0.259$) with a significant increase for the 2 training groups at post conditions [105.81 Nm (SD 41.46) vs. 127.73 Nm (SD 48.78) for pre and post-test, respectively, for the 20 Hz group; $P = 0.041$, $d = 0.49$ and 106.90 Nm (SD 31.81) vs. 135.4 Nm (SD 43.24) for pre and post-test, respectively, for the 100 Hz group; $P = 0.004$,

$d = 0.75$]. On the other hand, no significant changes were observed for CONT group [131.11 Nm (SD 49.21) vs. 130.80 Nm (SD 51.49) between pre and post-test, respectively]. The two-way ANOVA test with repeated measures on the evolution of MVIC values across the training period showed a time effect ($F_{5,90} = 12.13$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.924$) with a significant increase from the 7th session and until the end of the training protocol as compared with pretest values (Fig. 2A).

The t test analysis did not reveal any significant difference between ΣTTI values of the 2 training groups [$P = 0.19$, $\eta_p^2 = 0.181$, 107,680 Nm.s (SD 63319) for the 20 Hz group and 77,995 Nm.s (SD 24519) for the 100 Hz group], indicating that the total work performed during the training sessions was similar between groups. Interestingly, the $TTIr/TTIth$ ratio was positively correlated with the relative increase of MVIC ($r = 0.59$; $P = 0.006$), showing that subjects with the higher $TTIr/TTIth$ presented the greater MVIC increases post-training (Fig. 2B). Concerning the mechanical response associated with M_{MAX} (Pt), there was a time effect ($F_{1,27} = 7.07$, $P = 0.013$, $\eta_p^2 = 0.207$) and a significant group effect ($F_{2,27} = 4.78$, $P = 0.016$, $\eta_p^2 = 0.261$), with post-test values being significantly higher than pretest and CONT group presenting significant higher values than the 2 NMES groups (Table 2).

The two-way ANOVA test revealed a significant interaction effect (group $\times$ time) for VAL ($F_{2,27} = 4.95$, $P = 0.014$, $\eta_p^2 = 0.268$). This parameter significantly increased for the 2 training groups [85.01% (SD 7.48) vs. 89.18% (SD 4.69) for pre and post-test, respectively, for the 20 Hz group; $P = 0.035$, $d = 0.67$ and 85.66% (SD 5.36) vs. 90.58% (SD 5.67) for pre and post-test, respectively, for the 100 Hz group; $P = 0.009$, $d = 0.89$], whereas no significant change was observed for CONT [87.91% (SD 8.57) vs. 87.48% (SD 8.61) for pre and post, respectively]. Concomitantly, the same statistical analysis showed a significant time effect for RMS/M_{SUP} ($F_{1,27} = 8.88$,

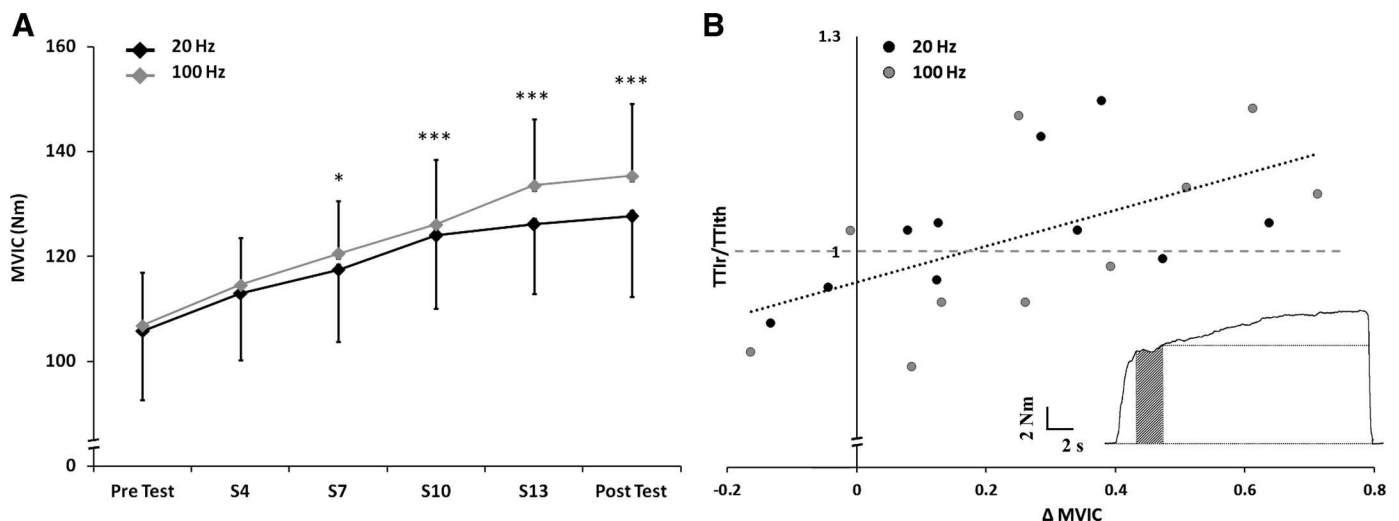


Fig. 2. Maximal voluntary isometric contraction (MVIC) data. MVIC evolution for the two protocols during the training period. For both groups, the MVIC increase was significant from the 7th training session (A). Correlation between real torque-time integral ($TTIr$)/theoretical torque-time integral ($TTIth$) and the relative MVIC increase ($\Delta MVIC$) and method of calculation of $TTIr/TTIth$ (B). This positive correlation ($r = 0.59$; $P < 0.01$) indicates that subjects with the higher $TTIr/TTIth$ presented the greater MVIC increases post-training. All points that are above the dashed horizontal line have a $TTIr/TTIth > 1$, indicating the presence of extra torque (central contribution to torque production during the training sessions). On the experimental torque trace, the hatched area corresponds to the first 2 s in the torque plateau used to estimate $TTIth$, calculated as the integral corresponding to the first 2 s of the torque plateau multiplied by 10. $TTIr$ corresponds to the integral of the entire 20-s period. MVIC, maximal voluntary isometric contraction. Data are means (SE). * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, significantly different from pretest.

Table 2. Electrophysiological and mechanical data before and after the training period for the three groups.

	20 Hz		100 Hz		CONTROL	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
H _{MAX} /M _{MAX}	0.19 (0.08)	0.22 (0.10)	0.19 (0.11)	0.23 (0.15)	0.28 (0.15)	0.26 (0.13)
H _{SUP} /M _{SUP}	0.36 (0.12)	0.40 (0.14)	0.29 (0.10)	0.43 (0.16)#	0.35 (0.14)	0.35 (0.14)
MEP _{MAX} /M _{MAX}	0.043 (0.022)	0.034 (0.017)	0.029 (0.020)	0.031 (0.022)	0.058 (0.029)	0.062 (0.034)
MEP _{SUP} /M _{SUP}	0.20 (0.09)	0.19 (0.05)	0.20 (0.10)	0.27 (0.12)#	0.19 (0.03)	0.19 (0.03)
V/M _{SUP} *	0.19 (0.09)	0.26 (0.13)	0.19 (0.05)	0.20 (0.09)	0.18 (0.11)	0.19 (0.10)
RMS/M _{SUP} *	0.020 (0.006)	0.025 (0.011)	0.022 (0.006)	0.030 (0.012)	0.021 (0.005)	0.020 (0.004)
M _{MAX} , mV	28.89 (7.07)	28.06 (7.99)	24.89 (8.52)	23.50 (8.09)	24.21 (8.02)	27.64 (10.62)
M _{SUP} , mV	30.66 (7.30)	33.47 (10.38)	30.38 (11.17)	27.94 (9.80)	30.64 (6.80)	32.43 (8.89)
MatH _{MAX} /M _{MAX}	0.29 (0.27)	0.37 (0.22)	0.36 (0.15)	0.39 (0.32)	0.44 (0.20)	0.41 (0.26)
MatH _{SUP} /M _{SUP}	0.24 (0.13)	0.25 (0.16)	0.35 (0.25)	0.36 (0.15)	0.35 (0.16)	0.37 (0.24)
Pt, Nm*	15.94 (3.99)	17.57 (3.73)	15.26 (1.93)	18.32 (3.71)	20.76 (4.56)	21.22 (4.98)

Data are means (SD) and correspond to the sum of the three triceps surae muscles (soleus + gastrocnemius lateralis + gastrocnemius medialis). H_{MAX}, maximum H-reflex at rest; H_{SUP}, maximum H-reflex during maximal voluntary isometric contraction; MatH_{MAX}, M-wave associated with H_{MAX}; MatH_{SUP}, M-wave associated with superimposed H-reflex; MEP_{MAX}, maximal motor-evoked potential at rest; MEP_{SUP}, maximum motor-evoked potential during maximal voluntary isometric contraction; M_{MAX}, maximal M-wave at rest; M_{SUP}, maximal M-wave during maximal voluntary isometric contraction; POST, after training; PRE, before training; Pt, peak twitch associated with M_{MAX}; RMS, root mean square; V, V-wave. * $P < 0.05$, significant time effect, post-test values higher than pretest values (all groups included); # $P < 0.05$, significant interaction (time $\times$ group) effect, post-test values higher than pretest values only for the 100-Hz group. Sample sizes are the following: 20 Hz, $n = 10$; 100 Hz, $n = 10$; CONT, $n = 10$.

$P = 0.006$, $\eta_p^2 = 0.247$) and V/M_{SUP} ($F_{1,27} = 5.85$, $P = 0.022$, $\eta_p^2 = 0.178$), with post-test values being higher as compared with pretest (Table 2).

Figure 3, A and C, depicts representative recordings of electrophysiological responses obtained before and after training for two subjects of the training groups. As can be seen in group data (Fig. 3, B and D), the two-way ANOVA test revealed an interaction effect (group $\times$ time) for H_{SUP}/M_{SUP} ($F_{2,27} = 4.44$, $P = 0.021$, $\eta_p^2 = 0.247$) and MEP_{SUP}/M_{SUP} ($F_{2,25} = 4.08$, $P = 0.029$, $\eta_p^2 = 0.245$) with an increase only for the 100 Hz group at post-test conditions ($P = 0.016$, $d = 1.04$ and $P = 0.034$, $d = 0.64$ for H_{SUP}/M_{SUP} and MEP_{SUP}/M_{SUP}, respectively). On the contrary, these ratios obtained at rest (H_{MAX}/M_{MAX} and MEP_{MAX}/M_{MAX}) did not show any significant modifications at post-test conditions for any group ($F_{2,27} = 1.12$, $P = 0.34$, and $\eta_p^2 = 0.076$ and $F_{2,25} = 2.26$, $P = 0.13$, and $\eta_p^2 = 0.153$, respectively). Finally, the MEP_{MAX}/H_{MAX} and MEP_{SUP}/H_{SUP} ratios were also not significantly modified at post-test conditions for any group ($F_{2,25} = 1.57$, $P = 0.22$, and $\eta_p^2 = 0.11$ and $F_{2,25} = 1.19$, $P = 0.32$, and $\eta_p^2 = 0.086$, respectively).

The two-way ANOVA test (group $\times$ time) did not show any significant main or interaction effect on M_{MAX}, M_{SUP}, MatH_{MAX}/M_{MAX}, and MatH_{SUP}/M_{SUP} (Table 2). The non-modification of this latter parameter at rest and during contraction ensures constant stimulation conditions throughout the experiment.

DISCUSSION

This study investigated the effects of two NMES training protocols (20 and 100 Hz) applied over the motor nerve at a low intensity on muscle strength as well as on accompanied neural adaptations. The main results showed an increase in MVIC torque for both training protocols. This increase was accompanied by neural adaptations, as evidenced by the increase in VAL, RMS/M_{SUP}, and V/M_{SUP} after both protocols. Finally, stimulation frequency differentially impacted spinal and corticospinal excitabilities. Indeed, these latter parameters were significantly enhanced only after the 100 Hz protocol.

The main finding of the present study was the increase in MVIC torque observed after both training protocols applied over the motor nerve at a low intensity (10% MVIC). This torque increase, significant from the 7th training session and also accompanied by a significant increase on Pt, was of a magnitude of 22% and 27% for the 20 and 100 Hz groups, respectively, representing slightly higher strength gains than those reported by previous studies. Indeed, strength gains varying from 8% to 22% for plantar-flexors (10, 23) and from 9% to 15% for knee extensors (11, 14) have been observed after NMES trainings applied over the muscle and using maximal tolerated intensities, whereas a recent study using low stimulation intensity (5% MVIC) did not report significant torque improvements (26). The important torque increases observed in the present study can be attributed to the indirect MU recruitment engendered by the use of nerve stimulation, contrary to previous studies that used muscle stimulation (10, 11, 14, 23), a stimulation site that favors the direct MU recruitment. Indeed, for the first time in the present study, the NMES training was applied over the motor nerve. Although nerve and muscle stimulation both generate contractions by depolarizing axons beneath the stimulation electrodes, the spatial distribution of sensory and motor axons under the stimulation site differs according to its location, influencing the MU recruitment (2). It has been shown that stimulation over the motor nerve, where sensory and motor axons are bundled close together, favors recruitment of sensory axons (indirect recruitment), as evidenced by the large amplitude of H-reflexes during NMES over the nerve, suggesting a greater spinal contribution to torque production under these conditions compared with muscle stimulation (2). In association with nerve stimulation, the use of low stimulation intensities minimizes the antidromic volley, enhancing the indirect MU recruitment and therefore the central contribution to torque production (3). Our results showing a significant correlation between this central contribution (TTIr/TTIth) and the MVIC increase (subjects with the higher TTIr/TTIth ratio were the ones who progressed the most) further support the indirect MU

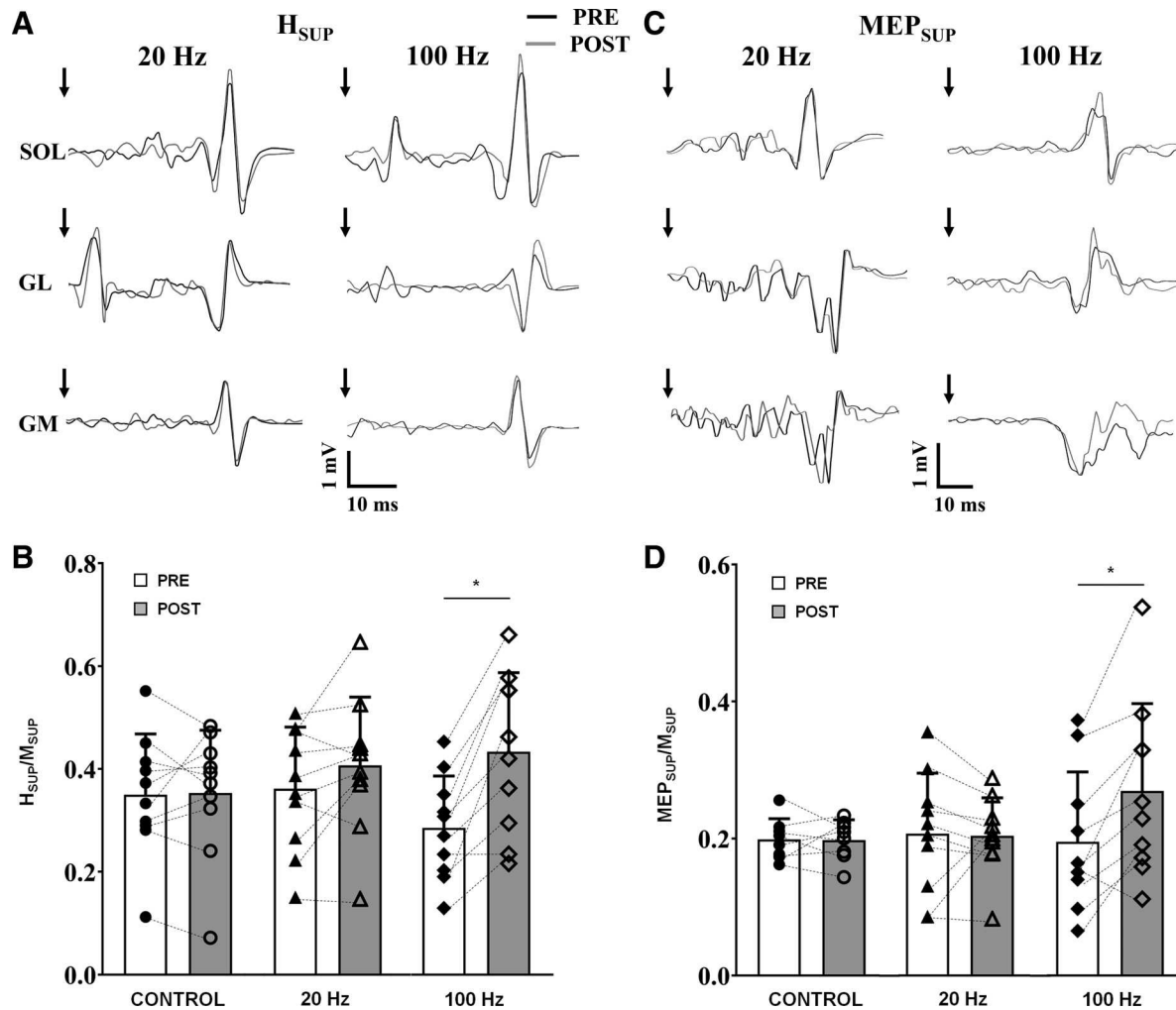


Fig. 3. Maximal H-reflex during maximal voluntary isometric contraction (H_{SUP})/maximal M-wave during maximal voluntary isometric contraction (M_{SUP}) and maximal motor-evoked potential during maximal voluntary isometric contraction (MEP_{SUP})/ M_{SUP} values before and after the 20 and 100 Hz training protocols. Recordings of a representative subject for superimposed H-reflex (H_{SUP}) of the three triceps surae muscles (A) and mean values of the sum of the three muscles for the three groups (B). Recordings of a representative subject for superimposed MEP (MEP_{SUP}) of the three triceps surae muscles (C) and mean values of the sum of the three muscles for the three groups (D). Arrows indicate the time of stimulation. Statistical analysis revealed an interaction effect (group $\times$ time) for these 2 variables with an increase only for the 100 Hz group at post conditions. Data are means (SE). * $P < 0.05$, significantly different from pretest value.

recruitment induced by these stimulation modalities as explanatory mechanism of the important torque increases.

To cope with torque decreases during the 100 Hz protocol, a lower stimulation frequency (20 Hz) was also used in the present study. Because repetitive high stimulation frequencies can induce increases in the excitability threshold of motor axons, making some of the activated MU silent during subsequent contractions (5, 18, 34), greater torque decreases have been observed during high stimulation frequencies compared with lower frequencies (25, 29). The fact that in the present study the total work accomplished by each training group, as assessed by the ΣTTI , was not significantly different indicates that this physiological phenomenon did not differentially affect torque output of the two groups. As a consequence, no statistically significant differences in MVIC gains during and at the end of the training period were observed between the two groups.

The mechanisms underlying the increase in torque production after the two NMES training protocols may result from

changes occurring at several sites along the pathway from the motor cortex, through the spinal cord to the muscle. Except the significant increase of Pt amplitude, indicating enhanced muscle contractile properties after both trainings, results showed the presence of neural adaptations as well. VAL significantly increased after both protocols, demonstrating a greater motor command reaching the muscles. Moreover, RMS/M_{SUP} and V/M_{SUP} of the sum of the three plantar-flexor muscles were also significantly increased, confirming the occurrence of neural adaptations as a result of these protocols. These results agree with those reported by previous studies showing enhanced neural command after NMES training of the plantar-flexor muscles (10, 23). Considering the fact that NMES solicits the entire neuromuscular system, as has been highlighted by previous neuroimaging studies showing cerebral cortex activation during NMES (31), the repetitive activation of brain regions during the period of NMES training could be the origin of the increased volitional drive arriving at the muscle level.

These improvements can be ascribed to changes occurring at the supraspinal and/or spinal level. The nonmodification of spinal excitability for the 20 Hz group, as evidenced by the unchanged $H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$ after training, suggests that the observed neural adaptations must have had a supraspinal origin. On the contrary, a significant increase in $H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$ was observed after the 100 Hz protocol, indicating changes occurring at the spinal level. To our knowledge, this is the first time that enhanced spinal excitability has been reported after NMES training. This novel result can be attributed to the stimulation parameters used in the present training protocol, leading to greater solicitation of the spinal loops during training (4, 7, 21) than previous studies using short pulse durations and high stimulation intensities over the muscle belly (10, 11). The lack of modifications of spinal excitability for the 20 Hz training group, despite the same stimulation modalities between 2 protocols, can be explained by the low stimulation frequency. In fact, high stimulation frequencies increase the rate at which the sensory volley is sent to the central nervous system (3) and in combination with the aforementioned modalities must have induced a greater afferent feedback to spinal neurons than lower stimulation frequencies, entailing enhanced Ia afferent motoneuron transmission efficacy. Consequently, the mechanism most likely accounting for our results is an increased volitional drive from supraspinal centers inducing greater activation of the muscles after the 20 Hz protocol, whereas this increase also has a spinal origin for the 100 Hz protocol. Moreover, the greater afferent feedback associated with higher stimulation frequencies may also be in the origin of the increased $\text{MEP}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$ observed only after the 100 Hz training, suggesting enhanced corticospinal excitability under these conditions, as previously reported (17, 24).

The spinal origin of neural adaptations observed after 100 Hz training can be ascribed to presynaptic and/or postsynaptic mechanisms as well as changes in motoneurons' intrinsic properties (6, 7). Although direct evaluation of these mechanisms was not performed in the present study, the increased $H_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$ in combination with the increase of $\text{MEP}_{\text{SUP}}/M_{\text{SUP}}$ and V/M_{SUP} after the 100 Hz protocol excludes decreased presynaptic inhibitory mechanisms as potential mechanisms. Indeed, the corticospinal tract, as tested by TMS, includes a direct monosynaptic pathway between motor cortex areas and spinal motoneurons (15), whereas there is evidence that descending tracts are not subject to presynaptic inhibition (27). It is therefore reasonable to suggest that increases in motoneuron excitability and/or decreases in postsynaptic inhibitory mechanisms (reciprocal and/or recurrent inhibition) were the origin of neural adaptations that occurred after the 100 Hz training. This hypothesis is further reinforced by the absence of modification in the $\text{MEP}_{\text{SUP}}/H_{\text{SUP}}$ ratio, suggesting that MEP increases could most likely be assigned to modulations taking place at the spinal level (increased motoneuron excitability and/or decreased postsynaptic inhibitions).

To conclude, the present study showed torque gains after NMES training applied over the motor nerve and at a low stimulation intensity for both low and high stimulation frequencies. The fact that these torque increases were significantly correlated with the magnitude of central contribution to torque production indicates the important role of the afferent volley to strength gains, which must have been enhanced by the location and intensity of stimulation. Stimulation frequency

differentially affected spinal and cortical excitabilities, indicating that neural adaptations had a supraspinal origin for the 20 Hz protocol, whereas spinal and supraspinal mechanisms were implicated in the torque increase after the 100 Hz protocol. The use of this type of NMES program (low intensity applied over the motor nerve) in rehabilitation settings can be proven beneficial in terms of strength gains and entailed neural adaptations while avoiding any serious discomfort because of stimulation intensity.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Gabriel Poirier for help with data analysis and all volunteers that participated in the study.

GRANTS

This work was supported by the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation.

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

F.V., A.M., and M.P. conceived and designed research; F.V. performed experiments; F.V. analyzed data; F.V., A.M., and M.P. interpreted results of experiments; F.V. prepared figures; F.V. and M.P. drafted manuscript; F.V., A.M., and M.P. edited and revised manuscript; F.V., A.M., and M.P. approved final version of manuscript.

REFERENCES

1. Baldwin ER, Klakowicz PM, Collins DF. Wide-pulse-width, high-frequency neuromuscular stimulation: implications for functional electrical stimulation. *J Appl Physiol* (1985) 101: 228–240, 2006. doi:10.1152/jappphysiol.00871.2005.
2. Bergquist AJ, Clair JM, Collins DF. Motor unit recruitment when neuromuscular electrical stimulation is applied over a nerve trunk compared with a muscle belly: triceps surae. *J Appl Physiol* (1985) 110: 627–637, 2011. doi:10.1152/jappphysiol.01103.2010.
3. Bergquist AJ, Clair JM, Lagerquist O, Mang CS, Okuma Y, Collins DF. Neuromuscular electrical stimulation: implications of the electrically evoked sensory volley. *Eur J Appl Physiol* 111: 2409–2426, 2011. doi:10.1007/s00421-011-2087-9.
4. Blouin JS, Walsh LD, Nickolls P, Gandevia SC. High-frequency sub-maximal stimulation over muscle evokes centrally generated forces in human upper limb skeletal muscles. *J Appl Physiol* (1985) 106: 370–377, 2009. doi:10.1152/jappphysiol.90939.2008.
5. Bostock H, Bergmans J. Post-tetanic excitability changes and ectopic discharges in a human motor axon. *Brain* 117: 913–928, 1994. doi:10.1093/brain/117.5.913.
6. Collins DF, Burke D, Gandevia SC. Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. *J Neurosci* 21: 4059–4065, 2001. doi:10.1523/JNEUROSCI.21-11-04059.2001.
7. Collins DF, Burke D, Gandevia SC. Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. *J Physiol* 538: 289–301, 2002. doi:10.1113/jphysiol.2001.012825.
8. Colson SS, Martin A, Van Hoecke J. Effects of electromyostimulation versus voluntary isometric training on elbow flexor muscle strength. *J Electromyogr Kinesiol* 19: e311–e319, 2009. doi:10.1016/j.jelekin.2008.05.009.
9. Dean JC, Clair-Augier JM, Lagerquist O, Collins DF. Asynchronous recruitment of low-threshold motor units during repetitive, low-current stimulation of the human tibial nerve. *Front Hum Neurosci* 8: 1002, 2014. doi:10.3389/fnhum.2014.01002.
10. Gondin J, Duclay J, Martin A. Soleus- and gastrocnemii-evoked V-wave responses increase after neuromuscular electrical stimulation training. *J Neurophysiol* 95: 3328–3335, 2006. doi:10.1152/jn.01002.2005.
11. Gondin J, Guette M, Ballay Y, Martin A. Electromyostimulation training effects on neural drive and muscle architecture. *Med Sci Sports Exerc* 37: 1291–1299, 2005. doi:10.1249/01.mss.0000175090.49048.41.

12. Gregory CM, Bickel CS. Recruitment patterns in human skeletal muscle during electrical stimulation. *Phys Ther* 85: 358–364, 2005.
13. Henneman E, Somjen G, Carpenter DO. Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *J Neurophysiol* 28: 560–580, 1965. doi:10.1152/jn.1965.28.3.560.
14. Herrero JA, Izquierdo M, Maffiuletti NA, García-López J. Electromyostimulation and plyometric training effects on jumping and sprint time. *Int J Sports Med* 27: 533–539, 2006. doi:10.1055/s-2005-865845.
15. Jankowska E, Padel Y, Tanaka R. The mode of activation of pyramidal tract cells by intracortical stimuli. *J Physiol* 249: 617–636, 1975. doi:10.1113/jphysiol.1975.sp011034.
16. Kesar TM, Stinear JW, Wolf SL. The use of transcranial magnetic stimulation to evaluate cortical excitability of lower limb musculature: challenges and opportunities. *Restor Neurol Neurosci* 36: 333–348, 2018. doi:10.3233/RNN-170801.
17. Khaslavskaja S, Ladouceur M, Sinkjaer T. Increase in tibialis anterior motor cortex excitability following repetitive electrical stimulation of the common peroneal nerve. *Exp Brain Res* 145: 309–315, 2002. doi:10.1007/s00221-002-1094-9.
18. Kiernan MC, Mogyros I, Burke D. Differences in the recovery of excitability in sensory and motor axons of human median nerve. *Brain* 119: 1099–1105, 1996. doi:10.1093/brain/119.4.1099.
19. Kiernan MC, Lin CS, Burke D. Differences in activity-dependent hyperpolarization in human sensory and motor axons. *J Physiol* 558: 341–349, 2004. doi:10.1113/jphysiol.2004.063966.
20. Klakowicz PM, Baldwin ER, Collins DF. Contribution of M-waves and H-reflexes to contractions evoked by tetanic nerve stimulation in humans. *J Neurophysiol* 96: 1293–1302, 2006. doi:10.1152/jn.00765.2005.
21. Lagerquist O, Walsh LD, Blouin J-S, Collins DF, Gandevia SC. Effect of a peripheral nerve block on torque produced by repetitive electrical stimulation. *J Appl Physiol* (1985) 107: 161–167, 2009. doi:10.1152/japplphysiol.91635.2008.
22. Maffiuletti NA. Physiological and methodological considerations for the use of neuromuscular electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol* 110: 223–234, 2010. doi:10.1007/s00421-010-1502-y.
23. Maffiuletti NA, Pensini M, Martin A. Activation of human plantar flexor muscles increases after electromyostimulation training. *J Appl Physiol* (1985) 92: 1383–1392, 2002. doi:10.1152/japplphysiol.00884.2001.
24. Mang CS, Lagerquist O, Collins DF. Changes in corticospinal excitability evoked by common peroneal nerve stimulation depend on stimulation frequency. *Exp Brain Res* 203: 11–20, 2010. doi:10.1007/s00221-010-2202-x.
25. Matkowski B, Lepers R, Martin A. Torque decrease during submaximal evoked contractions of the quadriceps muscle is linked not only to muscle fatigue. *J Appl Physiol* (1985) 118: 1136–1144, 2015. doi:10.1152/japplphysiol.00553.2014.
26. Neyroud D, Gonzalez M, Mueller S, Agostino D, Grosprêtre S, Maffiuletti NA, Kayser B, Place N. Neuromuscular adaptations to wide-pulse high-frequency neuromuscular electrical stimulation training. *Eur J Appl Physiol* 119: 1105–1116, 2019. doi:10.1007/s00421-019-04100-1.
27. Nielsen J, Petersen N. Is presynaptic inhibition distributed to corticospinal fibres in man? *J Physiol* 477: 47–58, 1994. doi:10.1113/jphysiol.1994.sp020170.
28. Oya T, Hoffman BW, Cresswell AG. Corticospinal-evoked responses in lower limb muscles during voluntary contractions at varying strengths. *J Appl Physiol* (1985) 105: 1527–1532, 2008. doi:10.1152/japplphysiol.90586.2008.
29. Papaioannidou M, Stevenot JD, Mustacchi V, Vanoncini M, Martin A. Electrically induced torque decrease reflects more than muscle fatigue. *Muscle Nerve* 50: 604–607, 2014. doi:10.1002/mus.24276.
30. Schieppati M. The Hoffmann reflex: a means of assessing spinal reflex excitability and its descending control in man. *Prog Neurobiol* 28: 345–376, 1987. doi:10.1016/0301-0082(87)90007-4.
31. Smith GV, Alon G, Roys SR, Gullapalli RP. Functional MRI determination of a dose-response relationship to lower extremity neuromuscular electrical stimulation in healthy subjects. *Exp Brain Res* 150: 33–39, 2003. doi:10.1007/s00221-003-1405-9.
32. Strojnik V, Komi PV. Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. *J Appl Physiol* (1985) 84: 344–350, 1998. doi:10.1152/jappl.1998.84.1.344.
33. Theurel J, Lepers R, Pardon L, Maffiuletti NA. Differences in cardio-respiratory and neuromuscular responses between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris muscle. *Respir Physiol Neurobiol* 157: 341–347, 2007. doi:10.1016/j.resp.2006.12.002.
34. Vagg R, Mogyros I, Kiernan MC, Burke D. Activity-dependent hyperpolarization of human motor axons produced by natural activity. *J Physiol* 507: 919–925, 1998. doi:10.1111/j.1469-7793.1998.919bs.x.
35. Vitry F, Martin A, Deley G, Papaioannidou M. Effect of reflexive activation of motor units on torque development during electrically-evoked contractions of the triceps surae muscle. *J Appl Physiol* (1985) 126: 386–392, 2019. doi:10.1152/japplphysiol.00463.2018.

6. Résumé et synthèse

Cette étude avait pour objectif d'examiner les effets de deux protocoles d'entraînement par électrostimulation (20 Hz et 100 Hz), combinant de grandes largeurs d'impulsions et de faibles intensités de stimulation, délivrés sur le nerf tibial sur les gains de force et les adaptations nerveuses qui en découlent. Les principaux résultats ont montré une augmentation de la capacité de production de force évaluée par la CMV pour les deux protocoles d'entraînement. Cette augmentation était accompagnée par des adaptations nerveuses comme indique l'augmentation du niveau d'activation, de la RMS/Mmax et du V/Mmax pour les deux protocoles. Une augmentation de l'excitabilité spinale et corticospinale a été observée seulement pour le protocole à 100 Hz, indiquant que les adaptations nerveuses avaient une origine supraspinale pour le protocole 20 Hz, alors que les mécanismes spinaux et/ou supraspinaux étaient impliqués dans l'augmentation de la force après le protocole à 100 Hz. De plus, une corrélation a montré que les sujets ayant développé la plus grande extra force à chaque début de session étaient ceux qui avaient gagné le plus en force. Ce résultat démontre d'une part que le fait de produire initialement des contractions élevées induit des gains de force plus importants, et d'autre part que le retour afférent maximisé par la stimulation nerveuse joue un rôle important dans les gains de force.

Ces deux premières études ont permis de mettre en évidence l'impact de l'extra force sur les adaptations neuromusculaires induites, quelle que soit la fréquence de stimulation. C'est pourquoi dans la suite de ce travail de thèse, nous nous attacherons à étudier plus précisément les conditions de stimulation permettant le développement de l'extra force.

IV. EXTRA FORCE ET RETOUR AFFERENT

1. L'extra force

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le phénomène d'extra force se caractérise par un surplus de force par rapport à ce que l'on pourrait attendre de la réponse à la stimulation directe des axones moteurs (Collins et al. 2001, 2002), et qui pourrait atteindre plus de 30% de la CMV pour des paramètres de stimulation initialement déterminés pour atteindre 5 à 10 % (Collins et al. 2001, 2002). Ce phénomène est maximisé avec l'utilisation de protocoles incluant de grandes largeurs d'impulsions (1 ms) combinées à de faibles intensités de stimulation. Il en résulte une dépolarisation préférentielle des afférences sensorielles (Kiernan et al. 2004; Veale et al. 1973), induisant un recrutement indirect des UM (Collins 2007). Ajoutées à cela, les faibles intensités de stimulation permettent de minimiser la collision antidromique, ce qui semblerait être une condition préalable au développement de l'extra force (Bergquist et al. 2011b; Dean et al. 2007).

Ce phénomène d'extra force est resté présent chez des sujets endormis ou chez des patients présentant une lésion à la moelle épinière (lésion complète à la vertèbre T12, et lésion incomplète à la vertèbre T8) (Collins et al. 2001), ce qui suggère qu'un mécanisme involontaire avec une contribution nerveuse (i.e. généré par les propriétés intrinsèques des neurones spinaux) est à l'origine de cette force supplémentaire. De par ce caractère « involontaire », le développement de l'extra force a également été observé lors de la stimulation par la vibration locale tendineuse à haute fréquence (Bochkezanian et al. 2017; Magalhães et al. 2013; Magalhes et Kohn 2010), suggérant que son occurrence nécessite le retour afférent à la moelle épinière et que des mécanismes nerveux sont susceptibles d'être impliqués dans son développement (Collins 2007; Collins et al. 2001). Cependant, un facteur potentiel empêchant la mise en œuvre dans le domaine clinique des protocoles WPHF pourrait résider dans la variabilité interindividuelle du développement de l'extra force.

2. Variabilité de l'extra force

L'extra force développée par chaque sujet peut varier considérablement lors d'un train de stimulation induit par des protocoles WPHF (Neyroud et al. 2017; Regina Dias Da Silva et al. 2015; Wegrzyk et al. 2015a, 2015b). En effet, certains sujets appelés « répondeurs » vont développer l'extra force, parfois de manière très importante (augmentation jusqu'à plus de 30% de la CMV malgré une intensité de stimulation initialement déterminée pour développer 5% de la CMV) (Collins et al. 2001), tandis que pour d'autres appelés « non répondeurs », il a été

observé une réduction de la force au cours du train (Neyroud et al. 2017; Wegrzyk et al. 2015b). Des études antérieures ont rapporté que l'extra force était présente chez 85% à 100% des sujets sous stimulation nerveuse ou musculaire (Baldwin et al. 2006; Collins et al. 2001; Klakowicz et al. 2006; Lagerquist et al. 2009). Cependant ces études ont été réalisées sur de faibles échantillons (5 à 15 sujets), tandis que d'autres études plus récentes portant sur de plus grands échantillons (42 sujets) rapportaient que seulement 57% des sujets testés développaient l'extra force (Wegrzyk et al. 2015b). Au sein des sujets « répondeurs », le surplus de force variait entre 4% et 16% de la CMV pour des paramètres de stimulation ajustés afin de développer 5% de la CMV au début de la contraction (Wegrzyk et al. 2015b). Cette importante variabilité interindividuelle a été confirmée par une récente étude montrant d'importantes disparités sur la force moyenne développée par les participants de 1 à 77% et de 0.6 à 64% de la CMV pour la stimulation nerveuse et musculaire respectivement (Neyroud et al. 2017).

Plusieurs hypothèses ont été émises afin d'expliquer l'importante variabilité de l'extra force selon les sujets. Parmi elles, est évoquée la neuroanatomie de chaque individu, correspondant à la différence entre le diamètre des axones moteurs et le diamètre des afférences sensorielles (Wegrzyk et al. 2015b). En effet, lorsque l'intensité de stimulation est déterminée afin de développer un faible pourcentage de la CMV (5%), certains sujets vont d'abord recruter les axones moteurs par rapport aux afférences sensorielles, tandis que pour d'autres le phénomène inverse sera observé. Normalement les afférences sensorielles ayant un diamètre plus gros que les motoneurones alpha, seront excitables à des intensités de stimulation plus faibles (Pierrot-Deseilligny et Burke 2005). Par conséquent, les répondeurs pourraient avoir des caractéristiques neuroanatomiques induisant un recrutement préférentiel des afférences sensorielles, tandis que les non répondeurs auraient un diamètre axonal moteur plus proche de celui des afférences sensorielles.

Les études essayant d'expliquer les mécanismes à l'origine de ce phénomène ont bien souvent investigué le comportement d'un seul des muscles participant au mouvement. Par exemple, pour la flexion plantaire, ils se sont intéressés au comportement uniquement du soléaire (Bergquist et al. 2011b; Collins et al. 2001, 2002). Wegrzyk et ses collègues ont évalué plusieurs variables neuromusculaires afin d'explorer les mécanismes pouvant expliquer la différence entre les répondeurs et les non-répondeurs (Wegrzyk et al. 2015b). Bien que la secousse musculaire, l'onde M et le réflexe H au repos ne soient pas différents entre les deux

groupes, le réflexe H en réponse au protocole WPHF a diminué uniquement pour les sujets « répondeurs » (Wegrzyk et al. 2015b).

Une autre hypothèse a été mise en avant pour expliquer l'importante variabilité interindividuelle. Elle concerne les différences entre les sujets par rapport aux effets de la neuromodulation. En effet, des entrées neuromodulatrices peuvent activer des courants entrants persistants (*Persistent Inward Current*, PIC, les mécanismes responsables de ce phénomène seront détaillés dans la quatrième partie de ce manuscrit) au niveau des neurones spinaux (Crone et al. 1988; Heckman et al. 2008; Heckman et Enoka 2012), qui selon certains auteurs seraient variables en fonction des sujets (Dean et al. 2007; Hounsgaard et al. 1988; Wegrzyk et al. 2015b). Ainsi, certaines personnes pourraient être soumises à une neuromodulation plus ou moins accrue, ce qui permettrait d'expliquer cette importante variabilité observée entre les individus (Harvey et al. 2006).

Indépendamment du mécanisme mis en avant, cette importante variabilité entre les sujets rend difficile la mesure objective et le calcul de l'extra force.

3. Evaluation de l'extra force

Jusqu'à présent, les approches utilisées pour calculer l'extra force sont diverses et variées selon les études. Cette absence de méthode de calcul clairement établie entraîne d'importantes limitations méthodologiques concernant l'interprétation de l'extra force. Par exemple, selon la méthode proposée par Dean et ses collègues, l'extra force a été quantifiée par la différence de force évoquée entre les 2 premières secondes et les 2 dernières secondes du train de stimulation (Dean et al. 2007) (Figure 22A), tandis qu'une seconde méthode consiste à calculer la différence de l'intégrale moment-temps (TTI pour Torque-Time Integral) entre le début et la fin d'un train de stimulation (Figure 22B) (Lagerquist et al. 2009; Neyroud et al. 2017).

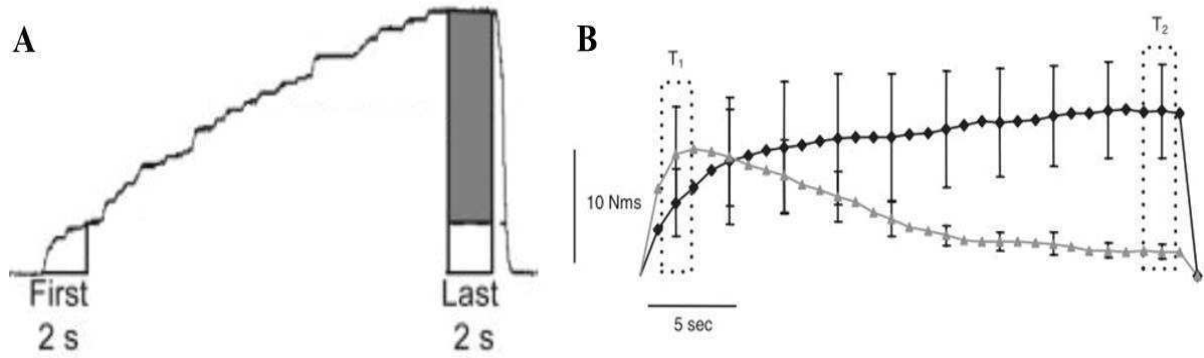


Figure 22. Différentes méthodes de calcul de l'extra force. (A) Méthode de calcul de l'extra force en considérant la différence entre les 2 premières et les 2 dernières secondes de la stimulation. *D'après* (Dean et al. 2007). (B) Méthode de calcul par la différence de l'intégrale moment-temps (TTI) entre le début et la fin de la stimulation. *D'après* (Lagerquist et al. 2009).

Dans les deux cas, ces méthodes de calcul ne tiennent pas compte des variabilités individuelles entre les profils de force. En effet, les profils de force sont très différents, certains vont avoir un pic de force au début, au milieu ou à la fin du train de stimulation (Figure 23), c'est pourquoi les méthodes de calcul actuelles ne sont pas applicables à ces différents profils de force.

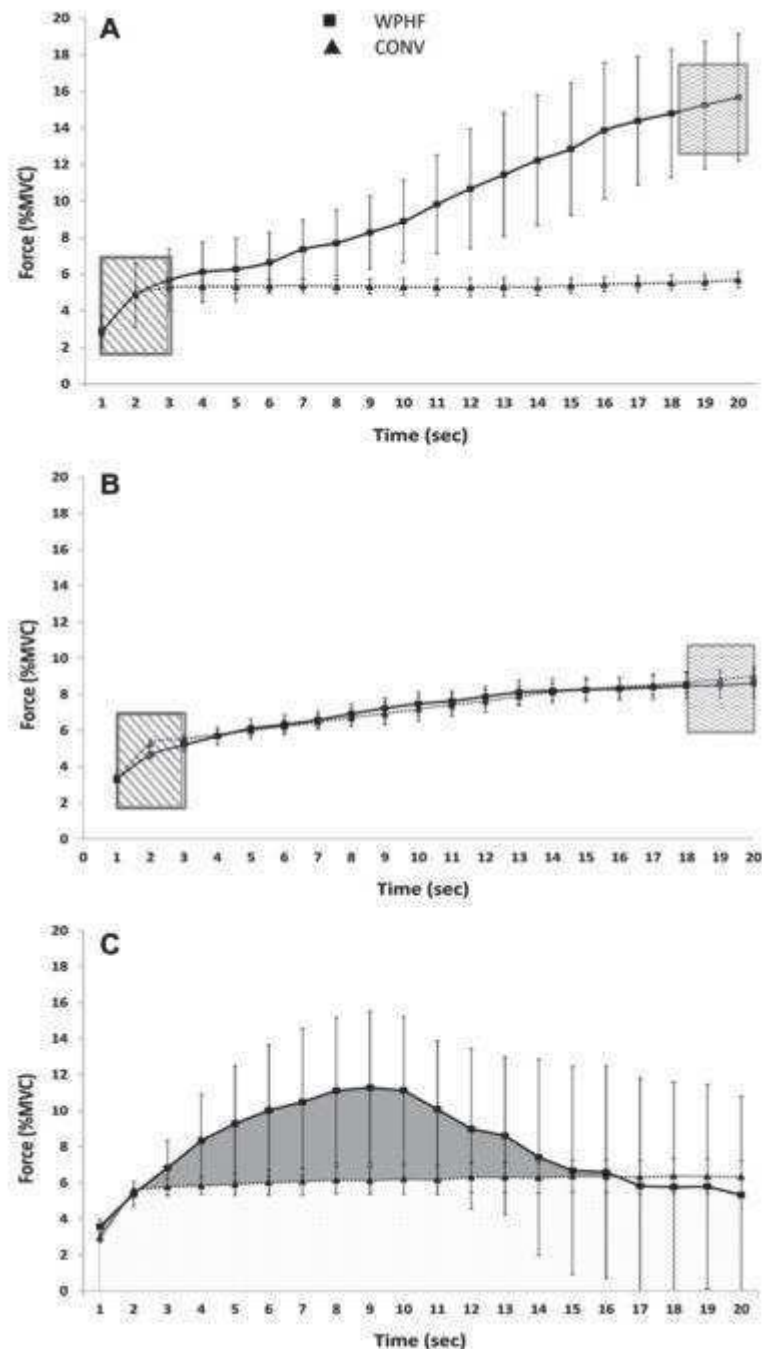


Figure 23. Exemples de différents profils de force. (A) Le pic de force est atteint à la fin de la stimulation, (B) la force augmente progressivement, puis se stabilise, (C) la force augmente rapidement, atteint son pic au milieu de la stimulation, puis diminue jusqu'à la fin de la stimulation. D'après (Wegrzyk et al. 2015b).

Si la neuroanatomie des sujets permet de recruter préférentiellement les afférences sensorielles avant les axones moteurs, chaque individu est potentiellement capable d'un point de vue physiologique de développer de l'extra force, en se mettant dans des conditions la favorisant (grandes largeurs d'impulsions et faible intensité de stimulation), afin d'induire un

recrutement indirect des UM. De plus, des études ont montré que son développement serait maximisé par l'utilisation de hautes fréquences (Collins et al. 2001, 2002; Wegrzyk et al. 2015b). Ainsi, l'objectif de la présente étude était de déterminer les conditions permettant d'expliquer l'occurrence de l'extra force en modulant la fréquence et l'intensité de la stimulation, et considérant la réponse physiologique des 3 muscles composant le triceps sural, à savoir le soléaire et les gastrocnémiens médial et latéral.

4. Contribution expérimentale

**Effet de l'activation réflexe des unités motrices sur le
développement de la force lors de contractions du muscle
triceps sural induites électriquement**

*Effect of reflexive activation of motor units on torque
development during electrically-evoked contractions of the
triceps surae muscle*

*Florian Vitry, Alain Martin, Gaëlle Deley, Maria
Papaiordanidou*

Publié dans *Journal of Applied Physiology* (2019)

RESEARCH ARTICLE

Effect of reflexive activation of motor units on torque development during electrically-evoked contractions of the triceps surae muscle

 Florian Vitry, Alain Martin, Gaëlle Deley, and Maria Papaïordanidou

INSERM UMR1093-CAPS, Université Bourgogne Franche-Comté, UFR des Sciences du Sport, Dijon, France

Submitted 25 May 2018; accepted in final form 11 September 2018

Vitry F, Martin A, Deley G, Papaïordanidou M. Effect of reflexive activation of motor units on torque development during electrically-evoked contractions of the triceps surae muscle. *J Appl Physiol* 126: 386–392, 2019. First published September 13, 2018; doi:10.1152/japplphysiol.00463.2018.—The aim of the study was to identify stimulation conditions permitting the occurrence of extra torque (ET) and to examine their impact on spinal and corticospinal excitabilities. Twelve subjects received stimulation trains over the tibial nerve (20 s duration, 1 ms pulse duration) that were delivered at 3 stimulation frequencies (20, 50, and 100 Hz) and at 5 intensities (110%, 120%, 130%, 140%, and 150% of the motor threshold). Torque-time integral (TTI) of each stimulation train was calculated. Spinal [maximum H-reflex ($H_{\max}$)/maximal M-wave ($M_{\max}$)] and corticospinal [maximal motor evoked potential amplitude ($MEP_{\max}$)/ $M_{\max}$] excitabilities were assessed at rest before and after each stimulation train by tibial nerve stimulation and by transcranial magnetic stimulation, respectively. Moreover, a twitch at each stimulation intensity was delivered before and after each stimulation train. The EMG activity associated with this twitch was analyzed to identify the initial motor unit (MU) recruitment pathway before each stimulation train and discriminate trials to H-trials (indirect recruitment) and M-trials (direct recruitment). TTI was higher for H-trials compared with M-trials for all tested frequencies. There was a decrease in $H_{\max}/M_{\max}$ for the 20 Hz-H trials and an increase for the 100 Hz-H trials, whereas $MEP_{\max}/M_{\max}$ remained unchanged at post measurements. Present results demonstrate that the initial MU recruitment pattern plays a main role in the ET occurrence, with the indirect recruitment via the afferent volley being substantial for its development. The modulations of $H_{\max}/M_{\max}$ without changes in $MEP_{\max}/M_{\max}$ suggest that the ET development affects spinal excitability and that these changes are frequency dependent.

NEW & NOTEWORTHY This study brings new insights into the stimulation conditions permitting the development of extra torque. An initial indirect recruitment of motor units, inducing reflex activation of spinal neurons through Ia afferent solicitation, appears a prerequisite for extra torque development. Under these conditions, spinal excitability modulations were frequency dependent.

corticospinal excitability; electrical stimulation; extra torque; H-reflex

INTRODUCTION

Neuromuscular electrical stimulation provokes motor unit (MU) activation (and hence muscle contractions) by a combination of peripheral and central pathways (4, 6). Peripheral pathways include depolarization of motor axons inducing a

direct MU recruitment, whereas central pathways involve depolarization of sensory axons entailing in that way an indirect MU recruitment through “reflex loops” (7, 8). Previous studies have shown that the relative contribution of these pathways can be modulated by stimulation parameters (pulse duration, frequency, intensity). The use of wide pulse duration (1 ms) combined with high frequencies (100 Hz) delivered at low intensities results in contractions mainly originating from a central pathway (7, 8). The high stimulation frequency increases the rate at which the sensory volley is sent to the central nervous system (4), whereas the wide pulse duration enables the activation of sensory axons having a longer strength duration and lower rheobase as compared with motor axons (29). Finally, the low current intensities minimize the antidromic collision in motor axons, permitting in that way action potentials traveling from the spinal cord to reach muscles (4).

The torque developed using these stimulation parameters can be enhanced as compared with the one evoked under more conventional stimulation conditions (low frequency, short pulse duration, and high intensity) (1, 7, 8). This higher torque, called extra torque (ET), is characterized by a surplus of what would be expected from the direct response to motor axon stimulation (8). It has been shown that this phenomenon was abolished by an anesthesia of the motor nerve blocking in that way afferent feedback to the spinal cord (7). However, it remained present in spinal cord-injured patients (7) and has also been observed during high-frequency vibratory tendon stimulation (5, 19, 20). These observations, as well as results of studies showing enhanced H-reflexes during ET development (3, 12, 13), suggest that its presence requires an afferent input to the spinal cord and that centrally mediated mechanisms are likely to be involved in its production (6, 7).

ET development has been reported to be variable between subjects. This variability concerns not only the percentage of individuals susceptible to develop ET, but also, for those for whom this is the case, the magnitude of ET. Indeed, previous studies report that high-frequency neuromuscular electrical stimulation induced ET in 85%–100% of the subjects under nerve or muscle stimulation (1, 7, 12, 14), whereas more recent studies report that only 57% of the tested subjects developed ET (31). For individuals that develop ET, torque surplus varies between 4% and 16% of the maximal voluntary isometric contraction (MVIC) for electrical stimulation parameters adjusted to develop 5% MVIC at the beginning of the contraction (31). An important feature to highlight is the fact that in each study the method used to calculate ET is arbitrarily chosen. For

Address for reprint requests and other correspondence: F. Vitry, INSERM U1093 Cognition, Action et Plasticité Sensorimotrice, Université de Bourgogne - UFR STAPS, Campus Universitaire, BP 27887 Dijon, France (e-mail: florian.vitry@u-bourgogne.fr).

example, ET was calculated as the difference in torque production or in torque-time integral (TTI) between the beginning and the end of a stimulation train (14, 22, 31), whereas other studies used the delta TTI values developed during different stimulation protocols (31). The first way of calculating ET does not account for differences in individual torque generating profiles, whereas the second one presupposes that there is a difference in the TTI developed during each protocol. Moreover, when trying to explain the physiological mechanisms responsible for this great intersubject variability, previous studies have discussed their results based on the electrophysiological behavior of one of the muscles participating in the studied movement. For example, concerning plantar flexion, they have considered only the soleus (SOL) muscle as representative of the whole triceps surae group. In addition, they have not analyzed whether the applied stimulation parameters had indeed induced an afferent input to the spinal cord (22, 31), which seems a prerequisite for ET development.

The aim of the present study was to determine the conditions permitting the occurrence of ET by modulating the frequency and intensity of stimulation. We hypothesized that ET would occur for all stimulation frequencies, and that for each subject the initial MU recruitment pathway (i.e., direct vs. indirect recruitment), related to the intensity of stimulation, would play a preponderant role in the ET development, as it would determine the afferent volley reaching the motoneurons. Because these different stimulation parameters would differently solicit the neuromuscular system, their impact on spinal and corticospinal excitability was also examined.

METHODS

Subjects

Twelve healthy volunteers [2 women; age 27.08 yr (SD 8.69), body mass 72.83 kg (SD 14.81), height 174.17 cm (SD 10.62); mean (SD)] participated in the study. They were all physically active and reported no history of ankle injury. After being given written information describing aims and procedures related to the study, all subjects signed the consent form. The study was approved by the scientific committee of the Faculty of Sport Sciences, University of Burgundy in Dijon and was in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki for human experimentation.

Experimental Design

Subjects visited the laboratory for 1 experimental session (average duration: 2 h 30 min). After identification of their maximal torque generation capacity of the plantar-flexor muscles (maximal voluntary effort for 4 s), they underwent stimulation trains at rest delivered at 3 frequencies (20 Hz, 50 Hz, and 100 Hz) and at 5 intensities (110%, 120%, 130%, 140%, and 150% of the motor threshold). Before (pre) and after (post) each stimulation train, corticospinal excitability and spinal excitability were assessed at rest while a twitch at the intensity of each stimulation train (P_{tstim}) and at a supramaximal intensity [eliciting maximal M-wave (M_{max}), see *Stimulation*] were also delivered. All these stimulations were delivered in a random order.

Data Acquisition

Torque recording. Voluntary and evoked torque developed by plantar flexors was recorded using an isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems Inc., Shirley, NY). Subjects were comfortably seated on the chair of the dynamometer with the right foot securely

strapped to the pedal at the ankle level. The dynamometer's axis of rotation was aligned with the anatomical plantar- and dorsiflexion axis of the ankle joint. The ankle angle was set at 90° and the knee joint was at 110° (180° full extension). This configuration was kept constant through the entire experimental session.

Electromyographic activity recording. Electromyographic activity (EMG) was recorded from four muscles of the right leg: SOL, gastrocnemius lateralis (GL), gastrocnemius medialis (GM), and tibialis anterior (to verify for inadvertent activation of this muscle during tibial nerve stimulation). EMG was recorded bipolarly using silver chloride circular (7-mm recording diameter) surface electrodes (Contrôle Graphique Medical, Brie-Compte-Robert, France) with an inter-electrode (center-to-center) distance of 20 mm. To minimize impedance (<5 k Ω), the skin was shaved, abraded, and cleaned with alcohol. For SOL, electrodes were placed 2 cm below the insertion of the two gastrocnemii over the Achilles tendon. For GL and GM muscles, electrodes were placed over the muscle belly, whereas for tibialis anterior they were placed at the upper third of the distance between the fibula head and the tip of the lateral malleolus. The reference electrode was placed between the two gastrocnemii of the same leg. EMG signals were amplified (gain 1,000), filtered (10 Hz–5 kHz), and collected with an acquisition frequency of 10 kHz. Torque and EMG data were recorded with Biopac Software (Biopac MP150, Biopac System Inc.).

Stimulation

Evoked potentials were elicited through nerve stimulation over the tibial nerve and magnetic stimulation over the motor cortex (M1 area). Stimulation trains were also delivered through tibial nerve stimulation.

Nerve stimulation. The tibial nerve was electrically stimulated in the popliteal fossa to elicit electrophysiological responses of the right triceps surae muscles. Monophasic rectangular pulses (1-ms pulse) were delivered using a Digitimer stimulator (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, UK) triggered by a commercially available software (Tida, Heka Elektronik, Lambrecht/Pfalz, Germany). The anode (5 $\times$ 10 cm, Compex SA, Ecublens, Switzerland) was placed over the patella. After determination of the optimal stimulation site (appropriate H-reflex acquisition in the SOL muscle), the cathode (a self-adhesive electrode with 7-mm diameter, Contrôle Graphique Medical) was firmly fixed in the popliteal fossa using straps. The intensity of stimulation was increased from the H-reflex threshold to M_{max} with 4-mA increments. The intensity at which M_{max} amplitude plateaued was further increased by 30% (supramaximal intensity). Subsequently, the intensity at which the maximum H-reflex (H_{max}) was observed was carefully sought using 2-mA increments. For these recruitment curves, 4 stimulations were delivered at each intensity every 10 s. Particular care was taken in monitoring the posture and head rotations of the subject during this procedure to maintain constant cortico-vestibular influences on the excitability of the motor pool (28).

Stimulation trains were delivered at 3 frequencies (20 Hz, 50 Hz, and 100 Hz) and at 5 intensities (110%–150% of the motor threshold), with a pulse duration of 1 ms, using the same experimental configuration. Each train lasted 20 s, separated by a 1-min rest period. A total of 15 trains were delivered at rest in a random order for each subject (3 frequencies $\times$ 5 intensities), giving a total of 180 trials (15 trains $\times$ 12 subjects).

Transcranial magnetic stimulation. Transcranial magnetic stimulation was delivered using a conical coil positioned over the motor cortex to elicit motor evoked potentials (MEP) on the right triceps surae muscles in response to magnetic stimulation (Magstim 200², Whitland, Dyfed, UK). The location of the stimulation site allowing the highest SOL MEP amplitude for the lowest stimulation intensity was first identified. To facilitate the identification of this optimal site, subjects were asked to perform a submaximal plantar flexion (20%

MVIC) with the aid of visual feedback (24). The optimal stimulation site was then marked on the swim cap that participants were wearing, and the coil was secured in place throughout the experimental session with an orientation permitting anterior-posterior directed current stimulation to the cortex. MEP recruitment curve was built at rest. Stimulation intensity was increased by 5% increments of the maximal stimulator output, from MEP threshold until maximal MEP amplitude [MEP_{max} ; average intensity 70.1% (SD 3.9) of the maximal stimulator output]. For this recruitment curve, 3 stimulations were delivered at each intensity every 10 s.

Data Analysis

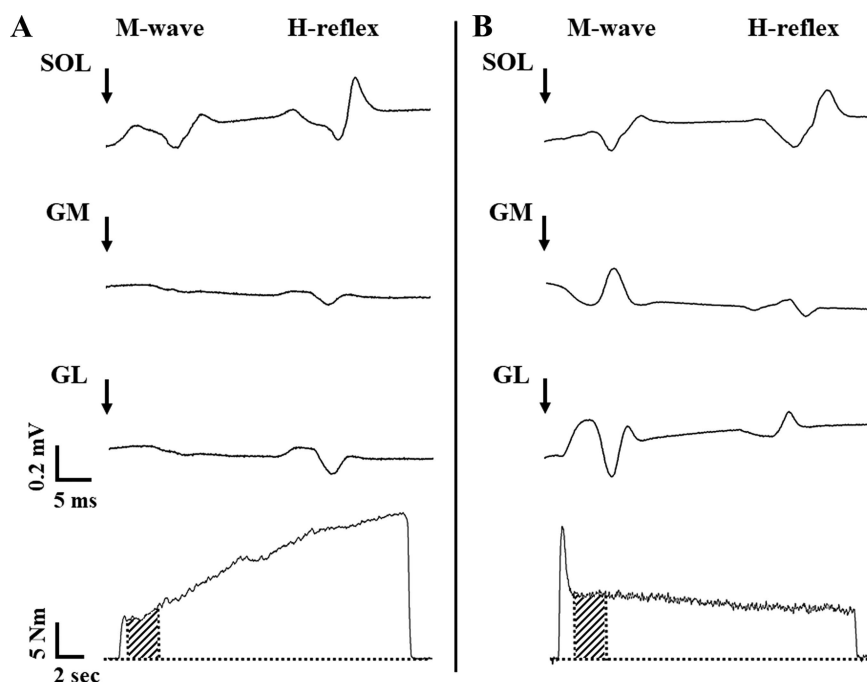
Torque data. The TTI was calculated for each 20-s stimulation train. TTI real (TTIr) corresponded to the integral of the entire 20-s period. TTI theoretical (TTIth) was also estimated as the integral corresponding to the first 2 s of the torque plateau multiplied by 10 (see Fig. 1 for calculation details). This time window started on average 1–1.5 s (range: 0.2–4.2 s) after the stimulation onset, excluding in that way the initial torque raising phase. TTIth corresponds to the TTI that theoretically would be developed without the presence of ET or fatigue. The ratio TTIr/TTIth was calculated to evaluate presence or not of ET (presence of ET corresponds to TTIr/TTIth > 1). We chose to express ET in that way to overcome individual differences in torque generating profiles [subjects may attain peak torque values at any time during the 20-s train, see Fig. 2 in Węgrzyk et al. (31)]. The torque amplitude of Pt_{Istim} before and after each stimulation train was also analyzed.

EMG data. The peak-to-peak amplitudes of M_{max} , H_{max} , and MEP_{max} were measured, and the ratios H_{max}/M_{max} and MEP_{max}/M_{max} were calculated to evaluate spinal and corticospinal excitability, respectively. The amplitude of the M-wave accompanying H_{max} was also measured and normalized with respect to M_{max} to verify constant stimulation conditions ($Math_{max}/M_{max}$). Finally, the EMG associated with the Pt_{Istim} was analyzed: the sum of the peak-to-peak amplitude of the H-reflex of the three triceps surae muscles (SOL + GL + GM) was calculated for each Pt_{Istim} ($\sum H_{PtIstim}$). The same calculation was performed for the M-wave associated to the Pt_{Istim} ($\sum M_{PtIstim}$), and the sum of these two electrophysiological responses was finally calculated ($\sum EMG_{PtIstim}$). These parameters were normalized with

respect to the sum of the M_{max} of the three muscles ($\sum H_{PtIstim}/\sum M_{max}$, $\sum M_{PtIstim}/\sum M_{max}$, $\sum EMG_{PtIstim}/\sum M_{max}$), and their values at pre conditions were considered to discriminate the 180 trials. Indeed, when the H contribution at the pre Pt_{Istim} was superior to 50% ($\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim} > 0.5$), the trial was considered an “H-trial” (MU recruitment mostly indirect), and those with an M contribution superior to 50% ($\sum M_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim} > 0.5$) were considered “M-trials” (MU recruitment mostly direct) (Fig. 1). When the same contribution of H and M responses was observed ($\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim} = 0.5$), trials were not included in any group.

Statistical analysis. Normality of data distribution for all measured variables was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. To evaluate the impact of stimulation parameters on ET development, a two-way ANOVA was performed on TTIr/TTIth (frequency $\times$ intensity). Because this initial statistical analysis did not reveal any main or interaction effect (frequency $\times$ intensity) on the TTIr/TTIth ratio (see RESULTS), trials were considered independently of the stimulation intensity. According to the literature demonstrating the influence of stimulation frequency on ET development (7, 8, 31), frequency was maintained as a discriminating factor, and after division of the 180 trials according to the electrophysiological response associated to Pt_{Istim} , a two-way ANOVA was performed on TTIr/TTIth (frequency $\times$ H-trial/M-trial), whereas a three-way ANOVA with repeated measures on the last factor (frequency $\times$ H-trial/M-trial $\times$ pre/post) was performed to assess differences in the following variables: H_{max}/M_{max} , MEP_{max}/M_{max} , $Math_{max}/M_{max}$, M_{max} , $\sum EMG_{PtIstim}/\sum M_{max}$, $\sum H_{PtIstim}/\sum M_{max}$, $\sum M_{PtIstim}/\sum M_{max}$, and Pt_{Istim} . Post hoc analysis was performed using the honestly significant difference Tukey test. A significance level of $P < 0.05$ was accepted for all analyses. Effects sizes are reported as partial eta squared (η_p^2) with small, moderate, and large effects considered for $\eta_p^2 \geq 0.01$, ≥ 0.07 , and ≥ 0.14 , respectively and Cohen's d with small, moderate, and large effects considered for $d \geq 0.2$, ≥ 0.5 , and ≥ 0.8 , respectively. Data are represented in the text as means and (SD) and in figures as means and (SE). All statistical tests were performed using Statistica software (Statsoft, version 7.1, Tulsa, OK), except the Cohen's effects size that was calculated with G*Power software (version 3.1.9, Universität Düsseldorf, Germany).

Fig. 1. M-wave and H-reflex associated to the Pt_{Istim} at pre conditions for soleus (SOL) and gastrocnemius medialis (GM) and lateralis (GL) for two typical subjects. These electrophysiological responses were used to discriminate the 180 trials. Arrows indicate the time of stimulation. A: sum of the H-reflex of the 3 muscles was superior to the sum of the M-waves ($\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim} = 0.63$). Trial was considered an “H-trial.” Bottom: evoked torque associated with these stimulation conditions. Hatched window shows the first 2 s in the torque plateau used to estimate TTIth (theoretical TTI value, calculated as the integral corresponding to the first 2 s of the torque plateau multiplied by 10). This H-trial produced a higher TTIr than TTIth (TTIr/TTIth = 1.68). B: sum of the M-waves was superior to the sum of the H-reflexes ($\sum M_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim} = 0.60$). This trial was considered “M-trial,” and there was not development of extra torque (TTIr/TTIth = 0.93). It is worthy to note that although both subjects have identical SOL EMG response to Pt_{Istim} , torque development is different, indicating the importance of considering behavior of all triceps surae muscles. $\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$, H-reflex associated to the Pt_{Istim} at pre conditions; $\sum M_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$, M-wave associated to the Pt_{Istim} at pre conditions; EMG, electromyographic activity; pre, before stimulation train; TTI, torque-time integral; TTIr, real torque-time integral; Pt_{Istim} , twitch delivered at each stimulation intensity.



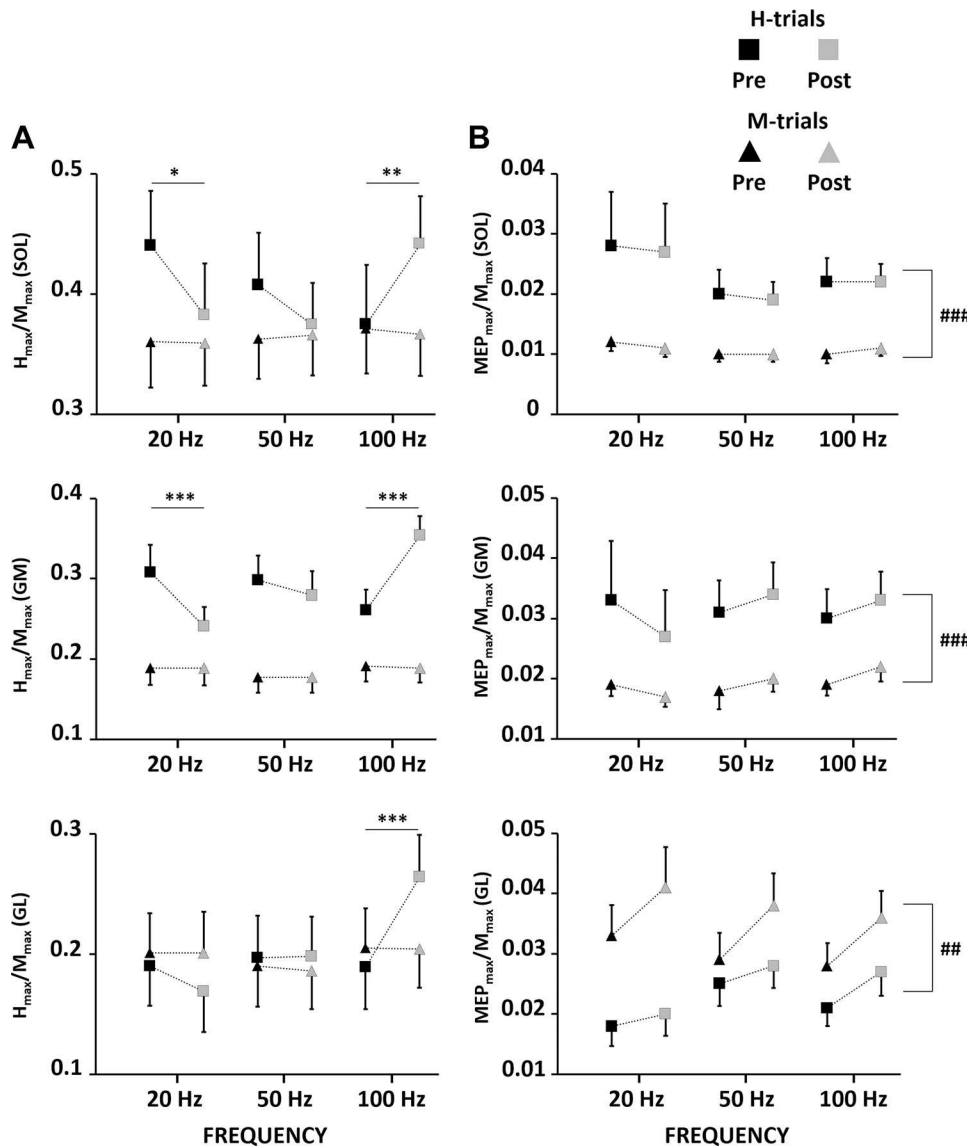


Fig. 2. Pre/post evolution of $H_{\max}/M_{\max}$ (A) and $MEP_{\max}/M_{\max}$ (B) for SOL, GM, and GL for the three stimulation frequencies. $H_{\max}/M_{\max}$ significantly decreased for 20 Hz-H for SOL and GM. This ratio significantly increased for 100 Hz-H for all muscles. $MEP_{\max}/M_{\max}$ did not evolve significantly between pre and post conditions, but was significantly higher in H-trials for SOL and GM and lower for GL as compared with M-trials. Data are means $\pm$ SE. *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, significant difference between pre and post values; ### $P < 0.01$ and ### $P < 0.001$, significant difference between H- and M-trials. Sample sizes for $H_{\max}/M_{\max}$ and $MEP_{\max}/M_{\max}$, respectively, are the following: 20 Hz-H SOL, GM, and GL $n = 18$, $n = 17$; 20 Hz-M SOL and GM $n = 36$, $n = 36$; 20 Hz-M GL, $n = 36$, $n = 35$; 50 Hz-H SOL, GM, and GL $n = 19$, $n = 18$; 50 Hz-M SOL, GM, and GL $n = 39$, $n = 39$; 100 Hz-H SOL, GM, and GL $n = 18$, $n = 17$; 100 Hz-M SOL, GM, and GL $n = 40$, $n = 40$. GL, gastrocnemius lateralis; GM, gastrocnemius medialis; $H_{\max}$, maximum H-reflex; $MEP_{\max}$, maximal motor evoked potential amplitude; $M_{\max}$, maximal M-wave; pre, before stimulation; post, after stimulation; SOL, soleus.

RESULTS

Initial statistical analysis on $TTIr/TTIth$ (two-way ANOVA, frequency $\times$ intensity) did not reveal any significant main or interaction effect of the stimulation parameters on ET ($P > 0.05$). Out of the 180 trials and according to the $\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$ at pre conditions, 55 trials were considered H-trials (18 trials at 20 Hz, 19 trials at 50 Hz, and 18 trials at 100 Hz), 115 M-trials (36 trials at 20 Hz, 39 trials at 50 Hz, and 40 trials at 100 Hz), whereas there were 10 trials having the same H and M contribution (6 trials at 20 Hz, 2 trials at 50 Hz, and 2 trials at 100 Hz). These latter trials were not included in either group.

Torque responses.

The two-way ANOVA (frequency $\times$ H-trials/M-trials) on $TTIr/TTIth$ showed a significant effect of H- or M-trials ($F_{1,164} = 59.23$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.27$). For all tested frequencies, this ratio was significantly higher for H-trials compared with M-trials ($P < 0.001$, $d = 1.09$; 1.16 ± 0.21 vs.

0.98 ± 0.08 for H- and M-trials, respectively). See Table 1 for values of $TTIr$ and $TTIth$.

The three-way ANOVA (frequency $\times$ H-trials/M-trials $\times$ pre/post) revealed a significant interaction effect on $PtIstim$

Table 1. H-trial and M-trial characteristics

	H-Trials	M-Trials
$TTIth$	312.35 Nm·s (179.75)***	211.39 Nm·s (109.43)
$TTIr$	376.75 Nm·s (241.76)***	219.41 Nm·s (120.11)
$\sum M_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$	0.24 (0.15)	0.80 (0.13)
$\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$	0.76 (0.15)	0.20 (0.13)
$MEP_{\max}/M_{\max}$ SOL	0.023 mV (0.025)***	0.011 mV (0.006)
$MEP_{\max}/M_{\max}$ GL	0.023 mV (0.015)***	0.034 mV (0.030)
$MEP_{\max}/M_{\max}$ GM	0.032 mV (0.027)***	0.019 mV (0.013)

Data are means (SD). $\sum H_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$, H-reflex associated to the $PtIstim$; $\sum M_{PtIstim}/\sum EMG_{PtIstim}$, M-wave associated to the $PtIstim$; GL, gastrocnemius lateralis; GM, gastrocnemius medialis; $MEP_{\max}$, maximal motor evoked potential amplitude; $M_{\max}$, maximal M-wave; $PtIstim$, twitch delivered at each stimulation intensity; SOL, soleus; $TTIr$, real torque-time integral; $TTIth$, theoretical torque-time integral. *** $P < 0.001$, significantly different from M-trials.

($F_{2,164} = 17.53$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.18$). This mechanical response was significantly increased for the 100 Hz-H at post conditions [$P < 0.001$, $d = 0.67$; 3.80 Nm (SD 3.23) vs. 5.27 Nm (SD 4.51) for pre and post measurements, respectively]. No significant difference was observed for M-trials.

Electrophysiological responses.

The three-way ANOVA (frequency $\times$ H-trial/M-trial $\times$ pre/post) did not show any significant main or interaction effect on $M_{\max}$ and $\text{MatH}_{\max}/M_{\max}$ of the three muscles. The non-modification of this latter parameter ensures constant stimulation conditions throughout the experiment.

Figure 2A represents evolution of $H_{\max}/M_{\max}$. Statistical analysis revealed a significant interaction effect (frequency $\times$ H-trials/M-trials $\times$ pre/post) for this parameter for SOL ($F_{2,164} = 10.91$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.12$), GL ($F_{2,164} = 15.80$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.16$), and GM ($F_{2,164} = 21.89$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.21$). This ratio significantly decreased at post conditions for the 20 Hz-H for SOL ($P = 0.03$, $d = 0.77$) and GM ($P < 0.001$, $d = 0.73$), significantly increased for the 100 Hz-H for SOL ($P < 0.001$, $d = 0.8$), GL ($P < 0.001$, $d = 1.28$), and GM ($P < 0.001$, $d = 0.85$), whereas it remained unchanged for the 50 Hz-H and all M-trials.

For $\text{MEP}_{\max}/M_{\max}$, statistical analysis showed an H-trial/M-trial effect for SOL ($F_{1,164} = 28.81$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.15$), GL ($F_{1,164} = 7.31$, $P = 0.007$, $\eta_p^2 = 0.04$), and GM ($F_{1,164} = 21.03$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.12$), with H-trials presenting significantly higher values for this ratio for SOL and GM and lower values for GL compared with M-trials. Results of this parameter for the three muscles are presented in Fig. 2B and Table 1.

Concerning the electrophysiological responses associated to Pt_{Istim} , there was a significant interaction effect (frequency $\times$ H-trials/M-trials $\times$ pre/post) for $\Sigma \text{EMG}_{\text{PtIstim}}/\Sigma M_{\max}$ ($F_{2,164} = 10.93$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.12$). This parameter was significantly higher ($P = 0.003$, $d = 0.46$) at post conditions for 100 Hz-H [0.14 (SD 0.13) and 0.18 (SD 0.14) for pre and post, respectively]. Same results (i.e., interaction effect) were obtained for $\Sigma H_{\text{PtIstim}}/\Sigma M_{\max}$ ($F_{2,164} = 12.90$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.14$), whereas for $\Sigma M_{\text{PtIstim}}/\Sigma M_{\max}$ there was a significant main H-trials/M-trials ($F_{1,164} = 4.46$, $P = 0.036$, $\eta_p^2 = 0.03$) and pre/post effect ($F_{1,164} = 15.12$, $P < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.08$), with M-trials having higher values for this ratio ($P = 0.03$) and post conditions being significantly lower than pre ($P < 0.001$).

DISCUSSION

The aim of the present study was to determine the conditions under which ET occurs by modulating stimulation parameters and to examine the effects of this modulation on corticospinal and spinal excitability. Main results showed that when the initial MU recruitment was mostly indirect (H-trials), the developed torque ($\text{TTIr}/\text{TTIth} > 1$) was higher than the one expected for the given stimulation parameters, suggesting that the indirect MU recruitment plays a preponderant role in the occurrence of ET. Moreover, under these conditions, there was a decrease in $H_{\max}/M_{\max}$ for the 20 Hz-H trials and an increase for the 100 Hz-H trials at post conditions. These modulations, without changes in $\text{MEP}_{\max}/M_{\max}$ after the stimulation trains, suggest that the ET development affects spinal excitability and that these changes are frequency dependent.

For all stimulation frequencies and independent of the stimulation intensity, H-trials (H-reflex contribution to Pt_{Istim} at pre conditions $> 50\%$) developed a higher TTIr compared with TTIth (16%, 13%, and 20% for 20, 50, and 100 Hz, respectively), whereas this was not the case for M-trials (H-reflex contribution to Pt_{Istim} at pre conditions $< 50\%$). H-trials were considered to reflect an indirect MU recruitment, via reflex activation of alpha-motoneurons, whereas M-trials were thought to represent a direct MU recruitment, through activation of motor axons. Results of TTIr/TTIth clearly show that when the MU recruitment is indirect, there is ET development, demonstrating that the afferent feedback plays a preponderant role in the production of ET (3, 8, 9, 12, 13). Our results give evidence of contributions of different MU populations to the torque production induced by reflex activation of spinal neurons compared with the torque developed through direct motor axons recruitment. These results demonstrate the dependence of ET occurrence on the initial MU recruitment pathway. Conclusions of previous studies state that high frequencies of stimulation (100 Hz) would maximize the development of ET compared with the use of lower frequencies (< 40 Hz) (7, 8) by increasing the rate at which the sensory volley is sent to the central nervous system (4). The fact that, in the present study, H-trials produced ET for all tested stimulation frequencies shows that this parameter cannot be considered as the main factor for ET development. Present results demonstrate that even lower stimulation frequencies can also induce ET development, provided that the MU recruitment is indirect.

ET occurrence is commonly explained by an increase in firing rate and recruitment of new motoneurons due to presynaptic and/or postsynaptic mechanisms; presynaptically through the development of post-tetanic potentiation of neurotransmitter release (6, 8, 19), and postsynaptically through the triggering of persistent inward currents (6, 7). Post-tetanic potentiation is an increase of the excitatory postsynaptic potential, which occurs because of enhanced neurotransmitter release at the synapse level due to a prior repetitive solicitation of the Ia-alpha motoneuron synapse (10). Persistent inward currents are mediated by dendritic calcium channels sensitive to neuromodulatory input that, when activated, amplify synaptic inputs and produce sustained motoneuronal membrane depolarization, enhancing in that way the motoneuron response to a given synaptic input (2, 16, 17, 26). Independent of the mechanism responsible for the development of ET, our results showing that this phenomenon occurred only for the H-trials suggest that the afferent input is a prerequisite for the presence of ET.

The second aim of the study was to examine the effects of stimulation parameters on corticospinal and spinal excitability at rest. Statistical analysis showed unchanged $\text{MEP}_{\max}/M_{\max}$ ratio, suggesting a preserved corticospinal excitability at post conditions for all frequencies and independent of the development of ET. Because MEP amplitude reflects excitability of both cortical and spinal neurons, interpretation of these results should be made concomitantly with those obtained for spinal excitability. Concerning spinal excitability, results indicate that the indirect MU recruitment (H-trials) had an impact on this parameter at rest for the three muscles of the triceps surae and give evidence of a frequency effect. Indeed, for the 20 Hz H-trials, a significant decrease of the $H_{\max}/M_{\max}$ ratio was observed, no effect was observed for the 50 Hz H-trials, whereas the 100 Hz

H-trials induced a significant increase in this parameter. The same observations obtained for the electrophysiological parameters associated to the P_{tstim} ($\sum EMG_{Ptstim}/\sum M_{max}$) for the 100 Hz H-trials show that these results are most probably conditioned by the behavior of the MU recruited at each stimulation train. Spinal excitability at rest can be modulated by changes in presynaptic inhibitions or by modifications in intrinsic properties of the alpha motoneurons resulting in an increase of their excitability (25). Presynaptic inhibitory mechanisms include homosynaptic post-activation depression of the Ia terminals and primary afferent depolarizing interneurons (27). These two mechanisms are activated by Ia afferent repetitive discharge and induce a decrease of neurotransmitter release at the Ia afferent-alpha motoneuron synapse. Nevertheless, the three stimulation frequencies have induced a repetitive solicitation of Ia afferents that could have resulted in increased presynaptic inhibitions, and ET was observed under all stimulation frequencies, suggesting that changes in intrinsic motoneuron properties or post-tetanic potentiation could have developed under all conditions. Therefore, it is reasonable to conclude that all of these physiological phenomena could have occurred in all cases. It is the relative contribution of each one that can explain the differences observed for each stimulation frequency during measurement of spinal excitability at rest. Indeed, presynaptic inhibitory mechanisms would be of great importance after 20-Hz stimulation, without affecting cortico-motoneuronal transmission efficacy (23). This can explain in the present study the distinct evolution between spinal and corticospinal excitabilities (decrease in H_{max}/M_{max} without MEP_{max}/M_{max} modulation). On the other hand, changes in motoneuron excitability and/or post-tetanic potentiation would be greater subsequent to 100-Hz stimulation. In the case of modifications of intrinsic motoneuron properties that impact cortico-motoneuronal transmission efficacy (9a), MEP amplitude would be affected. The fact that under 100-Hz stimulation MEP_{max}/M_{max} remained unchanged suggests a decrease in cortical neuron excitability (preserved MEP amplitude and enhanced motoneuronal excitability). This can be linked to the afferent volley entailed by the peripheral nerve stimulation, as suggested by previous studies reporting modifications (increase or decrease) of corticospinal excitability after repetitive peripheral nerve stimulation (11, 18, 21, 30).

Surprisingly, present results show that at pre conditions corticospinal excitability differed between H- and M- trials. Indeed, MEP_{max}/M_{max} was significantly higher for H-trials for SOL and GM, whereas for GL this parameter was significantly higher for M-trials. Since spinal excitability was not different between H- and M-trials, these unexpected results can most probably be explained by modulations at the supraspinal level, such as different subjects' alert or motivational state between trials. This hypothesis as well as the distinct behavior of GL from SOL and GM merit further investigations.

In conclusion, results of the present study demonstrate that the initial MU recruitment pathway plays a main role in the ET occurrence, with the indirect recruitment via the afferent volley being essential for its development. Considering the fact that ET was present for all stimulation frequencies and independent of the stimulation intensity, this study gives new insights into the conditions under which ET occurs. Moreover, a frequency-dependent impact on spinal excitability was observed, without modifications in corticospinal excitability. Although the underlying physiological mechanisms are most probably of pre- and

postsynaptic nature, further studies are needed to differentiate them.

GRANTS

This work was supported by the French Ministry of Higher Education, Research and Innovation.

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

F.V., A.M., and M.P. conceived and designed research; F.V. and M.P. performed experiments; F.V. analyzed data; F.V., A.M., G.D., and M.P. interpreted results of experiments; F.V. prepared figures; F.V. and M.P. drafted manuscript; F.V., A.M., G.D., and M.P. edited and revised manuscript; F.V., A.M., G.D., and M.P. approved final version of manuscript.

ENDNOTE

At the request of the authors, readers are herein alerted to the fact that additional materials related to this manuscript may be found at the institutional website of one of the authors, which at the time of publication they indicate is: <http://u1093.u-bourgogne.fr/images/stories/labo/pdf/Florian-Vitry/Data%20Repositories.pdf>. These materials are not a part of this manuscript and have not undergone peer review by the American Physiological Society (APS). APS and the journal editors take no responsibility for these materials, for the website address, or for any links to or from it.

REFERENCES

1. Baldwin ER, Klakowicz PM, Collins DF. Wide-pulse-width, high-frequency neuromuscular stimulation: implications for functional electrical stimulation. *J Appl Physiol* (1985) 101: 228–240, 2006. doi:10.1152/japplphysiol.00871.2005.
2. Bennett DJ, Hultborn H, Fedirchuk B, Gorassini M. Synaptic activation of plateaus in hindlimb motoneurons of decerebrate cats. *J Neurophysiol* 80: 2023–2037, 1998. doi:10.1152/jn.1998.80.4.2023.
3. Bergquist AJ, Clair JM, Collins DF. Motor unit recruitment when neuromuscular electrical stimulation is applied over a nerve trunk compared with a muscle belly: triceps surae. *J Appl Physiol* (1985) 110: 627–637, 2011. doi:10.1152/japplphysiol.01103.2010.
4. Bergquist AJ, Clair JM, Lagerquist O, Mang CS, Okuma Y, Collins DF. Neuromuscular electrical stimulation: implications of the electrically evoked sensory volley. *Eur J Appl Physiol* 111: 2409–2426, 2011. doi:10.1007/s00421-011-2087-9.
5. Bochezanian V, Newton RU, Trajano GS, Vieira A, Pulverenti TS, Blazeovich AJ. Effect of tendon vibration during wide-pulse neuromuscular electrical stimulation (NMES) on the decline and recovery of muscle force. *BMC Neurol* 17: 82, 2017. doi:10.1186/s12883-017-0862-x.
6. Collins DF. Central contributions to contractions evoked by tetanic neuromuscular electrical stimulation. *Exerc Sport Sci Rev* 35: 102–109, 2007. doi:10.1097/jes.0b013e3180a0321b.
7. Collins DF, Burke D, Gandevia SC. Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. *J Neurosci* 21: 4059–4065, 2001. doi:10.1523/JNEUROSCI.21-11-04059.2001.
8. Collins DF, Burke D, Gandevia SC. Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. *J Physiol* 538: 289–301, 2002. doi:10.1113/jphysiol.2001.012825.
9. Dean JC, Yates LM, Collins DF. Turning on the central contributions to contractions evoked by neuromuscular electrical stimulation. *J Appl Physiol* 9: 102–109, 2007. doi:10.1152/japplphysiol.01361.2006.
- 9a. Di Lazzaro V, Restuccia D, Oliviero A, Profice P, Ferrara L, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Magnetic transcranial stimulation at intensities below active motor threshold activates intracortical inhibitory circuits. *Exp Brain Res* 119: 265–268, 1998. doi:10.1007/s002210050341.
10. Hirst GD, Redman SJ, Wong K. Post-tetanic potentiation and facilitation of synaptic potentials evoked in cat spinal motoneurons. *J Physiol* 321: 97–109, 1981. doi:10.1113/jphysiol.1981.sp013973.
11. Khaslavskaya S, Ladouceur M, Sinkjaer T. Increase in tibialis anterior motor cortex excitability following repetitive electrical stimulation of the common peroneal nerve. *Exp Brain Res* 145: 309–315, 2002. doi:10.1007/s00221-002-1094-9.

12. **Klakowicz PM, Baldwin ER, Collins DF.** Contribution of M-waves and H-reflexes to contractions evoked by tetanic nerve stimulation in humans. *J Neurophysiol* 96: 1293–1302, 2006. doi:[10.1152/jn.00765.2005](https://doi.org/10.1152/jn.00765.2005).
13. **Lagerquist O, Collins DF.** Influence of stimulus pulse width on M-waves, H-reflexes, and torque during tetanic low-intensity neuromuscular stimulation. *Muscle Nerve* 42: 886–893, 2010. doi:[10.1002/mus.21762](https://doi.org/10.1002/mus.21762).
14. **Lagerquist O, Walsh LD, Blouin J-S, Collins DF, Gandevia SC.** Effect of a peripheral nerve block on torque produced by repetitive electrical stimulation. *J Appl Physiol* (1985) 107: 161–167, 2009. doi:[10.1152/jappphysiol.91635.2008](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91635.2008).
16. **Lee RH, Kuo JJ, Jiang MC, Heckman CJ.** Influence of active dendritic currents on input-output processing in spinal motoneurons in vivo. *J Neurophysiol* 89: 27–39, 2003. doi:[10.1152/jn.00137.2002](https://doi.org/10.1152/jn.00137.2002).
17. **Lee RH, Heckman CJ.** Influence of voltage-sensitive dendritic conductances on bistable firing and effective synaptic current in cat spinal motoneurons in vivo. *J Neurophysiol* 76: 2107–2110, 1996. doi:[10.1152/jn.1996.76.3.2107](https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.3.2107).
18. **Léonard G, Mercier C, Tremblay LE.** Effect of repetitive afferent electrical stimulation of the lower limb on corticomotor excitability and implications for rehabilitation. *J Clin Neurosci* 20: 435–439, 2013. doi:[10.1016/j.jocn.2012.02.049](https://doi.org/10.1016/j.jocn.2012.02.049).
19. **Magalhães FH, de Toledo DR, Kohn AF.** Plantar flexion force induced by amplitude-modulated tendon vibration and associated soleus V/F-waves as an evidence of a centrally-mediated mechanism contributing to extra torque generation in humans. *J Neuroeng Rehabil* 10: 32, 2013. doi:[10.1186/1743-0003-10-32](https://doi.org/10.1186/1743-0003-10-32).
20. **Magalhães FH, Kohn AF.** Vibration-induced extra torque during electrically-evoked contractions of the human calf muscles. *J Neuroeng Rehabil* 7: 26, 2010. doi:[10.1186/1743-0003-7-26](https://doi.org/10.1186/1743-0003-7-26).
21. **Mang CS, Lagerquist O, Collins DF.** Changes in corticospinal excitability evoked by common peroneal nerve stimulation depend on stimulation frequency. *Exp Brain Res* 203: 11–20, 2010. doi:[10.1007/s00221-010-2202-x](https://doi.org/10.1007/s00221-010-2202-x).
22. **Neyroud D, Grosprêtre S, Gondin J, Kayser B, Place N.** Test-retest reliability of wide-pulse high-frequency neuromuscular electrical stimulation evoked force. *Muscle Nerve* 57: E70–E77, 2018. doi:[10.1002/mus.25747](https://doi.org/10.1002/mus.25747).
23. **Nielsen J, Petersen N.** Is presynaptic inhibition distributed to corticospinal fibres in man? *J Physiol* 477: 47–58, 1994. doi:[10.1113/jphysiol.1994.sp020170](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1994.sp020170).
24. **Oya T, Hoffman BW, Cresswell AG.** Corticospinal-evoked responses in lower limb muscles during voluntary contractions at varying strengths. *J Appl Physiol* (1985) 105: 1527–1532, 2008. doi:[10.1152/jappphysiol.90586.2008](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90586.2008).
25. **Pierrot-Deseilligny E, Burke D.** *The Circuitry of the Human Spinal Cord: Its Role in Motor Control and Movement Disorders*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2005. doi:[10.1017/CBO9780511545047](https://doi.org/10.1017/CBO9780511545047).
26. **Prather JF, Powers RK, Cope TC.** Amplification and linear summation of synaptic effects on motoneuron firing rate. *J Neurophysiol* 85: 43–53, 2001. doi:[10.1152/jn.2001.85.1.43](https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.1.43).
27. **Rudomin P, Schmidt RF.** Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 129: 1–37, 1999. doi:[10.1007/s002210050933](https://doi.org/10.1007/s002210050933).
28. **Schieppati M.** The Hoffmann reflex: a means of assessing spinal reflex excitability and its descending control in man. *Prog Neurobiol* 28: 345–376, 1987. doi:[10.1016/0301-0082\(87\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0301-0082(87)90007-4).
29. **Veale JL, Mark RF, Rees S.** Differential sensitivity of motor and sensory fibres in human ulnar nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 36: 75–86, 1973. doi:[10.1136/jnnp.36.1.75](https://doi.org/10.1136/jnnp.36.1.75).
30. **Veldman MP, Zijdwind I, Solnik S, Maffiuletti NA, Berghuis KMM, Javet M, Négyesi J, Hortobágyi T.** Direct and crossed effects of somatosensory electrical stimulation on motor learning and neuronal plasticity in humans. *Eur J Appl Physiol* 115: 2505–2519, 2015. doi:[10.1007/s00421-015-3248-z](https://doi.org/10.1007/s00421-015-3248-z).
31. **Wegrzyk J, Fouré A, Vilmen C, Ghattas B, Maffiuletti NA, Mattei JP, Place N, Bendahan D, Gondin J.** Extra forces induced by wide-pulse, high-frequency electrical stimulation: occurrence, magnitude, variability and underlying mechanisms. *Clin Neurophysiol* 126: 1400–1412, 2015. doi:[10.1016/j.clinph.2014.10.001](https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.10.001).

5. Résumé et synthèse

L'objectif de cette étude était de déterminer les conditions permettant d'évoquer le phénomène d'extra force en modulant les paramètres de stimulation. De plus, l'impact sur l'excitabilité corticospinale et spinale a été étudié. Tout d'abord, cette étude a permis de développer une méthode rationnelle de calcul de l'extra force en utilisant le TTI théorique, permettant de prendre en compte tous les profils de force développée.

Les principaux résultats ont montré, indépendamment de la fréquence de stimulation, que lorsque le recrutement initial des UM était indirect (essais H, contribution du réflexe H supérieure à celle de l'onde M pour la somme des muscles participant à la contraction), le ratio $TTIr/TTIth$ permettant d'évaluer l'extra force était plus élevé que lorsque le recrutement initial des UM se faisait de manière directe (essais M, contribution de l'onde M supérieure à celle du réflexe H pour la somme des 3 muscles participant à la contraction). Ce premier résultat suggère que le recrutement indirect des UM joue un rôle prépondérant dans l'occurrence de l'extra force.

Une diminution du rapport H_{max}/M_{max} à 20 Hz et une augmentation de ce même rapport à 100 Hz ont été observées après les trains de stimulation des essais H. Ces modulations, sans modification de l'excitabilité corticospinale (MEP_{max}/M_{max}) après les trains de stimulation, suggèrent que le développement de l'extra force affecte l'excitabilité spinale et que ces changements sont dépendants de la fréquence de stimulation. Au repos, différents mécanismes peuvent expliquer ces modulations au niveau spinal, tels que des mécanismes d'inhibition présynaptique incluant les phénomènes de dépression post activation monosynaptique (Homosynaptic Post Activation Depression, HPAD) et de dépolarisation afférente primaire (Primary Afferent Depolarization, PAD), ou encore une modification des propriétés intrinsèques des motoneurones. Ces modulations après un train de stimulation induisant de l'extra force feront l'objet de la quatrième étude de ce travail de thèse.

V. MODULATION DE
L'EXCITABILITE SPINALE
INDUITE PAR L'EXTRA
FORCE

La moelle épinière constitue une circuiterie très complexe. Ce niveau de commande nerveuse n'est pas un simple relais entre l'étage cortical et l'étage musculaire, il est le siège de réseaux qui intègrent les signaux sensoriels et corticaux afin de produire la commande finale qui atteindra le muscle (Pierrot-Deseilligny et Burke 2005). De ce fait, de nombreux interneurons peuvent moduler cette commande en fonction de l'état initial du système neuromusculaire et par conséquent influencer l'amplitude du réflexe H, indicateur de l'excitabilité spinale. Les mécanismes pouvant moduler le réflexe H peuvent survenir au repos, par les inhibitions présynaptiques et l'excitabilité des motoneurons. Nous allons les décrire dans la partie suivante. Le réflexe H peut également être modulé par d'autres mécanismes tels que l'inhibition réciproque et l'inhibition récurrente. Comme ces mécanismes interviennent principalement en contraction, et que notre travail a fait l'objet d'investigation au repos, nous les décrirons en annexe de ce travail de thèse.

1. Inhibition présynaptique : mécanisme de la Dépolarisation Afférente Primaire (PAD)

Le PAD est un mécanisme d'inhibition présynaptique où l'inhibition est modulée par l'action d'un interneurone inhibiteur de nature GABAergique (sensible à l'acide gamma-aminobutyrique ou GABA). Cet interneurone agit sur les terminaisons des afférences Ia (Figure 24) (Curtis et Eccles 1960; Eccles et al. 1963) en réduisant la quantité des neurotransmetteurs libérés au niveau de la synapse. De ce fait, la dépolarisation du motoneurone est inhibée (Zehr 2002) et il en découle une diminution des potentiels post-synaptiques excitateurs. L'activation des récepteurs GABA augmente l'efflux d'ions chlore, induisant ainsi une dépolarisation des terminaisons des fibres afférentes. Cela induit une réduction de l'amplitude du potentiel d'action propagé qui bloque ou réduit l'influx de calcium, inhibant ainsi la libération de neurotransmetteur par les afférences Ia (Rudomin et Schmidt 1999). Cet interneurone inhibiteur reçoit des projections nerveuses venant des muscles antagonistes, synergistes, ou encore de la commande supraspinale.

L'inhibition présynaptique est évaluée au repos par la technique d'inhibition (D1) et de facilitation (HF) (Pierrot-Deseilligny et Burke 2005). Par exemple, pour le soléaire, lors de la technique d'inhibition, le réflexe H est conditionné par une stimulation appliquée au préalable (environ 21 ms) sur le nerf péronier commun afin d'induire une activation des afférences Ia du muscle antagoniste (tibial) se projetant sur l'interneurone présynaptique qui inhibe les afférences Ia du soléaire (Pierrot-Deseilligny et Burke 2005). La diminution observée entre le réflexe H non conditionné (H_{TEST}) et le réflexe H conditionné (H_{PSI}) reflète l'activation du PAD.

A l'inverse, pour évaluer la facilitation, le réflexe H est conditionné par une stimulation appliquée sur le nerf fémoral (H_{FAC}). Les afférences Ia des muscles quadriceps, synergistes des fléchisseurs plantaires pendant la marche, se projettent également sur les motoneurones du soléaire ayant une action excitatrice sur ceux-ci. Ainsi, la stimulation du nerf fémoral après celle du nerf tibial postérieur (environ 7 ms) produit une forte facilitation du réflexe H du soléaire (Hultborn et al. 1987). Le PAD, l'un des mécanismes de l'inhibition présynaptique est évalué par l'analyse des ratios H_{PSI}/H_{TEST} (D1) et H_{FAC}/H_{TEST} (HF).

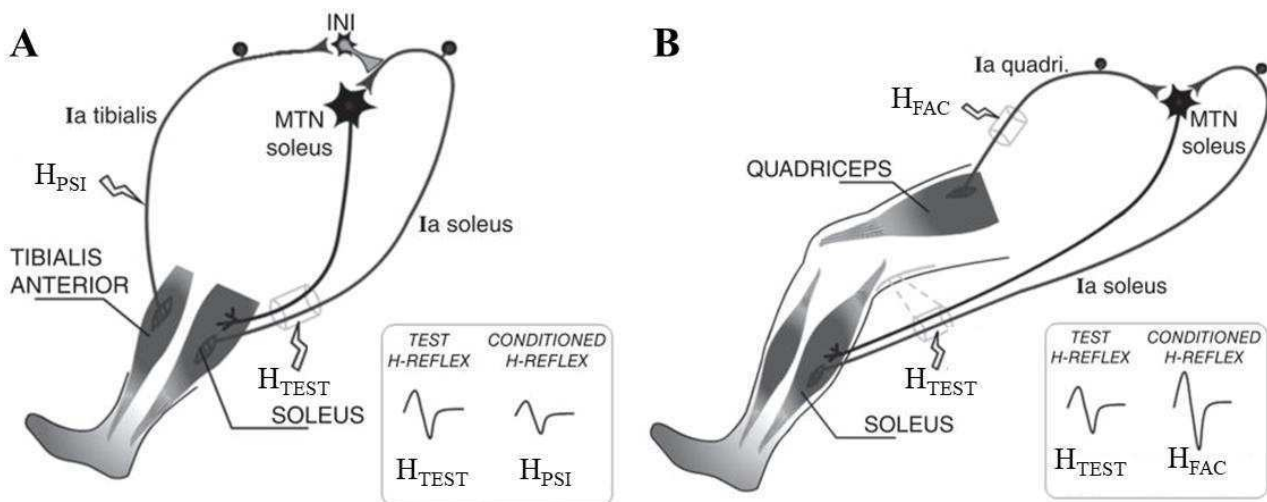


Figure 24. Mécanisme de l'inhibition présynaptique (Primary Afferent Depolarization). (A) Inhibition présynaptique du réflexe H du soléaire. La stimulation du nerf tibial postérieur induit le réflexe H non conditionné (H_{TEST}). Une stimulation appliquée au préalable sur le nerf péronier commun réduit l'amplitude du réflexe H du soléaire (H_{PSI}). (B) Facilitation du réflexe H du soléaire. Une stimulation appliquée sur le nerf fémoral augmente l'amplitude du réflexe H du soléaire (H_{FAC}) par rapport au réflexe H non conditionné (H_{TEST}). *Adapté de (Grosprêtre et al. 2019)*

2. Inhibition présynaptique : mécanisme de Dépression Post Activation (HPAD)

Plusieurs études ont décrit une diminution du réflexe H après une stimulation électrique du nerf, ou après une contraction volontaire du muscle testé (Crone et Nielsen 1989). Cette diminution du réflexe H, appelée Homosynaptic Post Activation Dépression résulte de la sollicitation répétée des afférences Ia, provoquant une diminution de la quantité de neurotransmetteurs disponibles au niveau de la synapse (Hultborn et al. 1996; Kuno 1964)

(Figure 25), mais ne serait pas due à l'action d'une synapse GABA-ergique (inhibitrice) sur l'afférence Ia comme le PAD.

D'autres études ont également mis en évidence chez l'homme que l'amplitude du réflexe H diminuait au cours d'une stimulation répétée (Aymard et al. 2000; Hultborn et al. 1996; Hultborn et Nielsen 1998; Lamy et al. 2005). Le mécanisme du HPAD est généralement étudié au repos car ce mécanisme est très peu observé lors de contractions (Burke et al. 1989), par une méthode de stimulations répétées des afférences (Hultborn et al. 1996; Zehr 2002). Le PAD et le HPAD agissent sur la terminaison des afférences Ia au niveau de la synapse avec le motoneurone alpha. Cependant, le motoneurone possède d'autres entrées pouvant moduler son excitabilité. Nous allons décrire ce mécanisme dans la partie suivante.

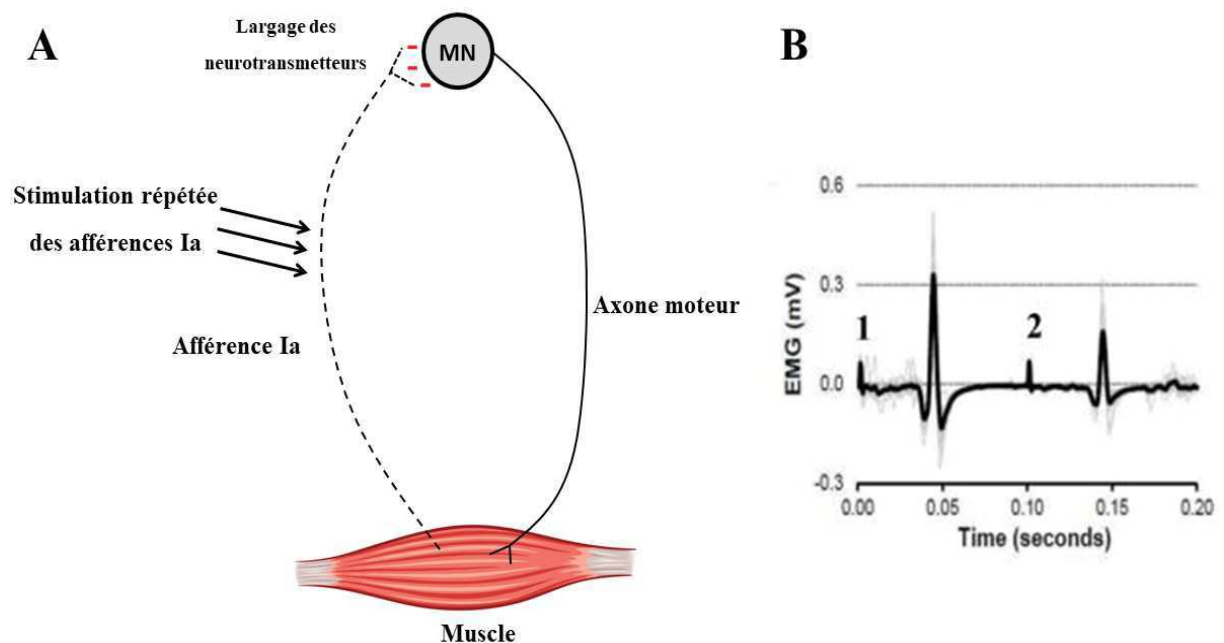


Figure 25. Mécanisme du HPAD. (A) l'évaluation de la dépression post activation (HPAD) est une succession de plusieurs stimulations électriques du nerf à faible intensité (n'activant que les afférences), qui va induire une diminution de la quantité de neurotransmetteurs disponibles dans la synapse. (B) le réflexe H évoqué par la deuxième stimulation est ainsi de plus faible amplitude. *Adapté de (Aymard et al. 2000)*

3. Modification de l'excitabilité des motoneurones

La transmission de l'information entre les neurones se fait au niveau de la synapse par la libération présynaptique de neurotransmetteurs qui vont ouvrir des canaux ioniques en se liant spécifiquement aux récepteurs post-synaptiques. L'efficacité de cette transmission synaptique dépend de la quantité de neurotransmetteurs libérés au niveau de la synapse mais aussi des

propriétés intrinsèques des motoneurones. Ces dernières peuvent être modulées par la neuromodulation. Ainsi, l'action de certains neuromodulateurs, tels que la sérotonine et la noradrénaline ont pour principal effet de moduler la polarité membranaire des motoneurones (Elliott et Wallis 1992; Hsiao et al. 1998; Inoue et al. 1999). Cette modulation peut être associée à une augmentation de l'excitabilité membranaire, aboutissant à une réduction du courant nécessaire au motoneurone pour émettre un potentiel d'action (Hsiao et al. 1997). En fonction de l'impact de la neuromodulation, l'entrée synaptique peut être grandement amplifiée, par les PIC provenant en grande partie de régions dendritiques (au moins 70%) (Bennett et al. 1998; Lee et Heckman 1996).

Les études antérieures ont montré que les PIC sont générés principalement dans les motoneurones par l'ouverture de canaux Ca^{2+} et Na^{+} (Bennett et al. 1998; Gorassini et al. 2002). Les PIC produisent des dépolarisations prolongées (potentiels de plateau) pouvant entraîner une décharge des motoneurones et contribuer à la contraction musculaire résiduelle suivant des périodes de vibration (Gorassini et al. 2002) ou de stimulation électrique (Collins et al. 2001, 2002). Il existe un courant calcique persistant (CaPIC) et un courant sodique persistant (NaPIC). Ces deux composants ont des comportements très différents. Le CaPIC s'active lentement (possédant une constante de temps d'environ 50 ms) mais est très persistant (Lee et Heckman 1998), tandis que le NaPIC s'active rapidement mais tend à présenter une inactivation plus rapide, même s'il génère toujours un courant pouvant durer quelques secondes.

La présence des PIC peut être mise indirectement en évidence par l'activité EMG soutenue (Sustained EMG Activity). En effet, les protocoles de stimulation WPHF génèrent des contractions musculaires qui peuvent se développer à des intensités inférieures au seuil moteur, et persister après la fin de la stimulation (Figure 26). La présence d'une activité EMG soutenue est un indice permettant de mettre indirectement en évidence la présence de PIC et suggère ainsi un recrutement des UM via la dépolarisation des afférences sensorielles (Bergquist et al. 2011b; Collins 2007).

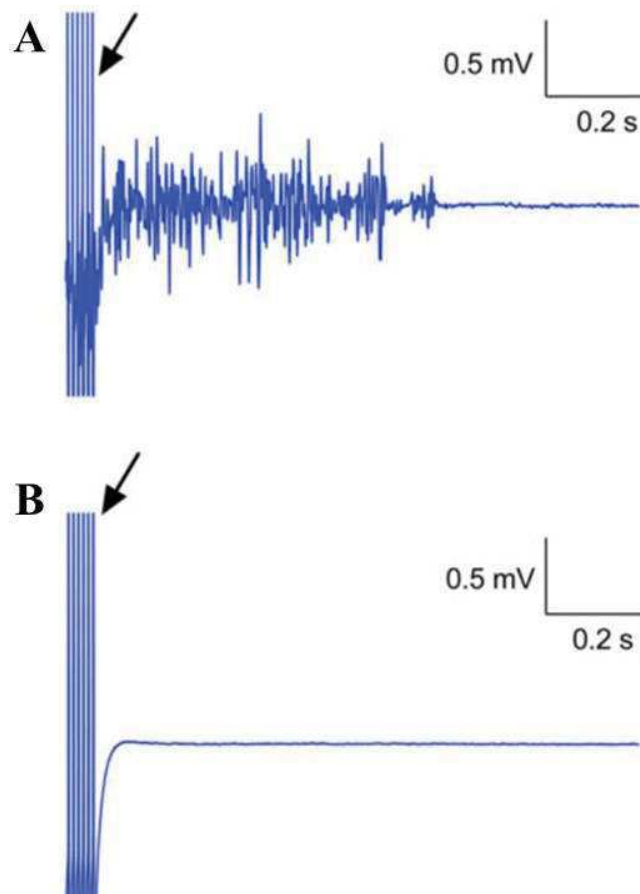


Figure 26. Tracés expérimentaux pour un sujet présentant une importante activité EMG soutenue après un train de stimulation de 20 secondes (A), et pour un sujet ne présentant aucune activité EMG soutenue (B). D'après (Neyroud et al. 2017).

La troisième étude de ce travail de thèse a montré que l'extra force pouvait se développer pour toutes les fréquences de stimulation, à partir du moment que le recrutement des UM était indirect. De plus, la sollicitation répétée de la boucle spinale a induit des changements au niveau de la transmission synaptique entre les afférences Ia et les motoneurones alpha en fonction de la fréquence de stimulation. En effet, le réflexe H au repos a diminué après le train de stimulation à 20 Hz, alors qu'il était augmenté après le train de stimulation à 100 Hz. Par conséquent, l'objectif de cette quatrième étude était de déterminer les mécanismes responsables de la modulation de l'excitabilité spinale après des trains de stimulation délivrés à deux fréquences différentes, et induisant le développement de l'extra force.

4. Contribution expérimentale

**Mécanismes modulant l'excitabilité spinale après une
stimulation nerveuse induisant le développement de l'extra
force**

*Mechanisms modulating spinal excitability after nerve
stimulation inducing extra torque development*

Florian Vitry, Maria Papaiordanidou, Alain Martin

Soumis

ABSTRACT

The aim of the study was to examine the mechanisms responsible for spinal excitability modulations following stimulation trains inducing extra torque (ET) development.

In 16 participants presynaptic inhibition was assessed before and after a stimulation train delivered at 20 or 100Hz (pulse duration 1ms), at an intensity permitting ET development in the triceps surae. Modulation of presynaptic inhibition was assessed by conditioning the soleus H-reflex (tibial nerve stimulation) with stimulation of the common peroneal nerve (D1) and of the femoral nerve (heteronymous Ia facilitation, HF). Spinal excitability was assessed by maximal H reflex measurements before and after the stimulation trains, normalized to the maximal muscle compound action potential (H_{MAX}/M_{MAX}). Sustained electromyographic (EMG) activity was measured after each stimulation train.

Main results showed decreased H_{MAX}/M_{MAX} after the 20Hz train ($P=0.03$), while this parameter tended to increase after the 100Hz stimulation ($P=0.09$). D1 and HF were not significantly modified after either stimulation. Sustained EMG activity was greater after the 100 as compared to the 20Hz train ($P=0.04$).

Results demonstrate that spinal excitability was differentially affected according to the stimulation frequency. Since the decrease observed after the 20Hz train could not be explained by D1 modulation, it was suggested that homosynaptic post-activation depression of the Ia afferents terminals could more likely be in the origin of the diminished H_{MAX}/M_{MAX} . On the other hand, the increased spinal excitability after the 100Hz train could be ascribed to increased motoneurons' excitability, as evidenced by the higher values of sustained EMG activity after the stimulation.

KEY WORDS

Extra torque, H-reflex, D1 presynaptic inhibition, heteronymous Ia facilitation

INTRODUCTION

Neuromuscular electrical stimulation (NMES) consists of evoking muscle contractions by applying an electrical current over the muscle or motor nerve via surface electrodes (Vanderthommen et al. 2003). It has been previously shown that NMES can elicit muscle contractions via motor units' (MU) activation through peripheral and central pathways (Bergquist et al. 2011b; Collins 2007). Peripheral pathways consist of motor axons' depolarization inducing a direct MU recruitment, whereas central pathways involve depolarization of sensory axons entailing an indirect MU recruitment through "reflex loops" (Collins et al. 2001, 2002). The relative contribution of these pathways to the electrically evoked torque can be modulated by stimulation parameters (pulse duration and intensity of stimulation). The use of wide pulse duration (1 ms) delivered at low stimulation intensities results in contractions mainly originating from a central pathway (Collins et al. 2001, 2002). The wide-pulse duration enables the activation of sensory axons having a longer strength duration and lower rheobase as compared to motor axons (Kiernan et al. 2004; Veale et al. 1973), while the low current intensities minimize the antidromic collision in motor axons, permitting to action potentials traveling from the spinal cord to reach muscles (Bergquist et al. 2011b).

This indirect MU recruitment gives rise to the phenomenon of extra torque (ET) that is characterized by an additional torque of what would be expected from the direct response to motor axons' stimulation (Collins et al. 2001, 2002). Experiments showing that, during complete anesthesia of the motor nerve blocking the afferent feedback to the spinal cord, ET was abolished (Collins et al. 2001, 2002), demonstrate the importance of the afferent feedback for its development. It has been reported that high stimulation frequency maximizes its presence (Collins et al. 2001, 2002) by increasing the rate at which the sensory volley is sent to the central nervous system (Bergquist et al. 2011b). Moreover, it has recently been shown that ET development was higher when the initial MU recruitment was indirect (Vitry et al. 2019). Indeed, by analysing the electrophysiological response of the solicited MU [electromyographic (EMG) activity associated to the twitch elicited at the stimulation intensity used during the NMES train], it has been shown that when MU were indirectly activated (H-reflex contribution higher than M-wave contribution), ET could develop independently of the stimulation frequency (Vitry et al. 2019), further highlighting the importance of afferent feedback to ET development.

However, in this latter study, although ET was apparent for all tested stimulation frequencies when the MU recruitment was indirect, the repetitive solicitation of the spinal loop

induced distinct changes of the synaptic transmission between Ia afferents and alpha motoneurons according to the stimulation frequency. Maximal H-reflex amplitude at rest was decreased after the 20 Hz train, whereas it was increased after the 100 Hz train (Vitry et al. 2019). It was hypothesized that the decrease observed after low stimulation frequency could be explained by increased presynaptic inhibitory mechanisms, including homosynaptic post-activation depression of the Ia afferents terminals (HPAD, Hultborn et al. 1987) and primary afferent depolarizing interneurons (PAD, Rudomin and Schmidt 1999), resulting in decreased neurotransmitter release at the Ia afferent-alpha motoneuron synapse. On the other hand, changes in intrinsic motoneurons' properties resulting in enhanced motoneuron response to a given synaptic input through the triggering of persistent inward currents (PICs), was put forward as an explanatory mechanism for the increased spinal excitability observed after the 100 Hz train. PICs result from dendritic calcium channels sensitive to neuromodulatory input that, when triggered, amplify synaptic inputs and produce sustained motoneuronal membrane depolarization (Lee 2002; Prather et al. 2001). It is important to highlight that repetitive solicitation of Ia afferents resulting in increased presynaptic inhibitions could have occurred for low and high stimulation frequency, while ET generally explained by the presence of PICs (Collins 2007; Collins et al. 2001), was also observed for the two stimulation frequencies, suggesting that the relative contribution of each of these physiological phenomena was frequency-dependent.

The aim of the present study was to shed light on the mechanisms responsible for the distinct modulation of spinal excitability following stimulation trains inducing ET development and delivered at different frequencies. Presynaptic inhibitory mechanisms were tested by analyzing PAD changes through two main H-reflex conditioning techniques at rest: D1 presynaptic inhibition (D1, Pierrot-Deseilligny and Burke 2005) and heteronymous Ia facilitation (HF), both recommended to ascertain the evaluation of the presynaptic inhibition level (Crone et al. 1990; Pierrot-Deseilligny and Burke 2005). Presence of PICs, suggesting changes in motoneurons' properties, was indirectly evidenced by the analysis of sustained EMG activity after the stimulation trains (Bergquist et al. 2011b; Collins 2007; Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009; Neyroud et al. 2017). In line with previous results, it was hypothesized that spinal excitability at rest would be decreased due to increased PAD activity after the 20 Hz train, while it would be increased after the 100 Hz train, due to the presence of PICs as evidenced by a greater EMG activity following the stimulation trains.

METHODS

Subjects

Sixteen healthy participants volunteered to take part in the study (11 males, 5 females, 26.31 ± 8.40 years, 174.25 ± 9.19 cm, 69.69 ± 12.49 kg). None of the participants had history of neurological or neuromuscular disorders. Subjects gave written informed consent to participate, after being informed on the objectives and eventual risks associated with the study. The experimental design was approved by the scientific committee of the Faculty of Sport Sciences, University of Burgundy in Dijon, and was in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki for human experimentation.

Experimental design

Subjects visited the laboratory for one experimental session lasting about 2 h. After a warm-up including 8-10 submaximal contractions of the plantar-flexors, at least three MVIC were performed for each subject (coefficient of variation $< 5\%$). The posterior tibial nerve was electrically stimulated to determine at rest intensities needed to evoke H-reflexes (H_{MAX} and H_{TEST}) and M-waves of soleus (SOL). In order to induce D1 and HF of the SOL H-reflex, the intensity of conditioning stimuli delivered over tibial and femoral nerves respectively, were then determined. After identification of these stimulation intensities, the intensity permitting ET development was determined by recording torque developed during a 5-s train delivered at 20 or 100 Hz. Pre tests, including stimulations evoking D1 and HF for three different H_{TEST} intensities, H_{MAX} , M_{MAX} and Pt_{Istim} (see below) were performed before a 20-s stimulation train delivered at 20 and 100 Hz. Immediately after the 20-s stimulation train, post measurements were realized, including stimulations evoking D1 and HF for one H_{TEST} intensity, H_{MAX} and M_{MAX} . After a 15-min break, the aforementioned stimulation intensities were checked and the same protocol including pre-measurements, the stimulation train for the second tested frequency and post-measurements was realized.

Experimental procedures

Pre-Post measurements. Because the size of the H_{TEST} influences the amount of inhibition or facilitation to the motoneuron pool (Crone et al, 1990) and the effect of the stimulation train on spinal excitability may be transitory, three H_{TEST} sizes were tested during pre measurements while only one was tested at post measurements. The three H_{TEST} amplitudes tested at pre measurements corresponded to 40, 50 and 60 % H_{MAX} (i.e $H_{40\%}$, $H_{50\%}$ and $H_{60\%}$), while at post only $H_{50\%}$ was tested. For each H_{TEST} amplitude, stimulation intensity of the conditioning H-

reflex was the same and not modulated between pre and post measurements. These H_{TEST} amplitudes were chosen according to a pilot study having revealed a statistically significant linear relationship between H_{TEST}/M_{MAX} and conditioned H reflex (inhibited or facilitated)/ M_{MAX} (unpublished data). In case of significant H_{TEST} amplitude changes at post conditions ($H_{50\%}$), this linear relationship allowed the calculation of the theoretical conditioned H reflex (the amount of inhibition or facilitation that would be obtained at pre conditions for an H_{TEST} amplitude similar to the one obtained at post conditions, i.e. $H_{PSI50\%th}$, $H_{FAC50\%th}$).

Before the stimulation train and for each intensity tested, 24 conditioned (inhibition) H-reflexes with prior stimulation of the common peroneal nerve (8 $H_{PSI40\%}$, 8 $H_{PSI50\%}$, 8 $H_{PSI60\%}$), 24 conditioned (facilitation) H-reflexes with prior stimulation of the femoral nerve (8 $H_{FAC40\%}$, 8 $H_{FAC50\%}$, 8 $H_{FAC60\%}$) and 24 unconditioned H-reflexes (8 $H_{40\%}$, 8 $H_{50\%}$, 8 $H_{60\%}$) were elicited at rest in a randomized order. All these stimulations were delivered every 5 s. Three H_{MAX} and three stimulations at supramaximal intensity (130% M_{MAX}) were delivered every 10 s. Finally, three twitches at the intensity of the stimulation train (Pt_{Istim} , see below) were also delivered. Immediately after the end of the stimulation train (post), three stimulations eliciting H_{MAX} , three stimulations at supramaximal intensity, 8 $H_{PSI50\%}$, 8 $H_{FAC50\%}$ and 8 $H_{50\%}$ were delivered at rest in a randomized order.

Stimulation train. Stimulation intensity was determined before each pre measurement with a train lasting 5 s (1 ms pulse duration), for each frequency (20 and 100 Hz). Intensity was gradually increased until ET was observed. This corresponded to a higher torque value at the end of the 5-s train as compared to the start of the train (excluding the initial rising torque phase). The stimulation intensity varied between 5 and 18 mA (mean: 11.9 ± 4.9 mA) for the 20 Hz stimulation and between 4.5 and 15 mA (mean: 10.7 ± 3.9 mA) for the 100 Hz stimulation. This stimulation intensity was used to evoke a single twitch (Pt_{Istim}) as well as the 20-s stimulation trains.

EMG recordings. Electromyographic activity (EMG) was recorded from the three triceps surae muscles [SOL, Gastrocnemius Lateralis (GL) and Gastrocnemius Medialis (GM)], from one muscle of the tibial compartment (TA) and from one muscle of the quadriceps [Vastus Lateralis (VL)]. After shaving and dry-cleaning the skin with alcohol to get low impedance ($< 5 \text{ k}\Omega$), EMG signals were obtained by using two silver-chloride circular (7 mm recording diameter) surface electrodes (Contrôle Graphique Medical, Brie-Compte-Robert, France) placed with an inter-electrode center-to-center distance of 2 cm. For SOL, electrodes were placed 2 cm below

the insertion of the two gastrocnemii over the Achilles' tendon. For GL, GM and VL muscles, electrodes were placed over the muscle belly, while for TA they were placed at the upper third of the distance between the fibula head and the tip of the lateral malleolus. The common reference electrode was placed in a central position between the stimulation and recording sites between upper-gastrocnemii insertions. EMG signals were amplified (gain = 1000), filtered (5 kHz) and collected with a sampling frequency of 10 kHz. EMG data were recorded with Biopac Software (Biopac MP150, Biopac System Inc, USA).

Torque recordings. Participants sat on an isokinetic dynamometer (Biodex Medical Systems Inc., Shirley, NY, USA) used to record plantar-flexors torque. The axis of the dynamometer was aligned with the external malleolus of the right leg. The ankle angle was set at 0° (90° between the leg and the sole of the foot) and the knee joint was at 110° (180° full extension). The right foot was strapped to the pedal at the ankle level. The trunk was stabilized to the seat of the dynamometer by two crossover shoulder harnesses. This configuration was kept constant during the entire session.

Nerve stimulation. The posterior tibial nerve was electrically stimulated in the popliteal fossa in order to elicit electrophysiological responses of the right triceps surae muscles. Monophasic rectangular pulses (1 ms pulse) were delivered using a Digitimer stimulator (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, UK), triggered by a commercially available software (Tida, Heka Elektronik, Lambrecht/Pfalz, Germany). The anode (5 x 10 cm, Compex SA, Ecublens, Switzerland) was placed over the patella and the stimulation electrode (a self-adhesive electrode with 30 mm diameter, Durastick Plus, DJO Global, Vista, CA) was placed in the popliteal fossa. The optimal stimulation site (highest electrophysiological response for SOL with the lowest stimulation intensity) was initially identified with a hand-held cathode ball-electrode. Once this site was determined, the stimulation electrode was firmly fixed in the popliteal fossa using straps. Recruitment curves were performed at rest to determine stimulation intensities to evoke H-reflexes ($H_{40\%}$, $H_{50\%}$, $H_{60\%}$ and H_{MAX}) and M_{MAX} responses of SOL. The intensity of stimulation was increased from H-reflex threshold to M_{MAX} , with 4-mA increment. The intensity at which M_{MAX} amplitude plateaued was further increased by 30% to ensure supramaximal stimulation. Subsequently, 1-mA increments were used to determine stimulation intensities to evoke $H_{40\%}$, $H_{50\%}$ and $H_{60\%}$. For these recruitment curves, four stimulations were delivered at each intensity every 10 s. Particular care was taken in monitoring the posture and

head rotations of the subject during this procedure in order to maintain constant cortico-vestibular influences on the excitability of the motor pool (Schieppati 1987).

Assessment of D1 presynaptic inhibition (D1). H_{TEST} were conditioned by prior stimulation applied to the common peroneal nerve in order to induce D1 presynaptic inhibition of Ia afferents onto alpha motoneurons (Pierrot-Deseilligny and Burke 2005). The decrease observed between H_{TEST} and the conditioned response (H_{PSI}) reflects the activation of presynaptic inhibitory mechanisms. The conditioning stimulus was applied to the branch of the common peroneal nerve with two silver-chloride surface electrodes (7 mm diameter) placed at the upper part of the antero-lateral side of the leg, distal to the fibula head (Forget et al. 1989). A triplet at 300 Hz (1 ms pulse duration) was delivered on the common peroneal nerve at an intensity corresponding to TA motor threshold (lowest stimulation intensity that allowed recording of a TA M-wave). The delay between common peroneal (conditioning stimulus) and tibial nerve stimuli (H_{TEST}) was set to produce the greatest depression of H-reflex amplitude. It was in mean of 20.5 ± 1.6 ms and was adjusted according to subjects' height.

Assessment of heteronymous Ia facilitation (HF). To assess spinal facilitation, a conditioning stimulus was applied to the femoral nerve. Prior activation of the femoral nerve facilitates alpha motoneuron response to Ia synaptic input, due to monosynaptic projection on triceps surae alpha motoneurons (Hultborn et al. 1987). The femoral nerve was stimulated by a hand-held cathode ball-electrode (0.5 cm diameter) placed in the femoral triangle, laterally to the femoral artery. The anode (5 x 10 cm, Compex SA, Ecublens, Switzerland) was placed on the gluteus maximus muscle belly. Electrical stimulations of 1-ms pulse duration were delivered with an electrical stimulator (DS7AH, Digitimer, Hertfordshire, UK), in order to determine VL motor threshold intensity (lowest stimulation intensity that allowed recording of a VL M-wave). The delay between femoral nerve (conditioning stimulus) and tibial nerve stimuli (H-reflex) was set to produce the greatest facilitation of SOL H_{TEST} amplitude. It was in mean of 6.8 ± 1.1 ms and was adjusted according to subjects' height.

Data analysis

EMG analysis. The mean of the 8 peak-to-peak amplitudes of H_{TEST} , H_{PSI} , H_{FAC} , $MatH_{TEST}$, $MatH_{PSI}$ and $MatH_{FAC}$ and the mean of the 3 peak-to-peak amplitudes of M_{MAX} , H_{MAX} and $MatH_{MAX}$ were calculated. Each response was normalized to the corresponding M_{MAX} evoked in the same condition (pre or post measurements). Thus, H_{MAX}/M_{MAX} , H_{TEST}/M_{MAX} ,

$\text{MatH}_{\text{MAX}}/\text{M}_{\text{MAX}}$, $\text{H}_{\text{PSI}}/\text{M}_{\text{MAX}}$, $\text{H}_{\text{FAC}}/\text{M}_{\text{MAX}}$, $\text{MatH}_{50\%}/\text{M}_{\text{MAX}}$, $\text{MatH}_{\text{PSI}}/\text{M}_{\text{MAX}}$ and $\text{MatH}_{\text{FAC}}/\text{M}_{\text{MAX}}$ were calculated.

Presynaptic inhibition and facilitation were analyzed by the ratio of conditioned H-reflex (H_{PSI} and H_{FAC}) over the unconditioned H-reflex (H_{TEST}), i.e. $\text{H}_{\text{PSI}}/\text{H}_{\text{TEST}}$ and $\text{H}_{\text{FAC}}/\text{H}_{\text{TEST}}$. Three different H_{TEST} amplitudes were tested during pre-measurements, giving the possibility to calculate a linear regression between $\text{H}_{\text{TEST}}/\text{M}_{\text{MAX}}$ and the conditioned H-reflexes ($\text{H}_{\text{PSI}}/\text{M}_{\text{MAX}}$ and $\text{H}_{\text{FAC}}/\text{M}_{\text{MAX}}$). For each subject, parameters of the equation (slope and y-intercept) were used to estimate the theoretical pre values of conditioned H-reflexes ($\text{H}_{\text{PSI}}/\text{M}_{\text{MAX}}$ and $\text{H}_{\text{FAC}}/\text{M}_{\text{MAX}}$) for an H_{TEST} amplitude similar to the one obtained at post measurement (Table 1). After each stimulation train, sustained EMG activity and its duration (i.e. the EMG activity that persisted after the stimulation train) were measured from 50 ms after the last pulse of the stimulation train (in order not to consider electrophysiological responses associated to the last pulse of the train) until the end of this sustained EMG activity. The root mean square (RMS) over this window was calculated and was normalized by the RMS of M_{MAX} (i.e. $\text{RMS}_{\text{SUST}}/\text{RMS}_{\text{M}_{\text{MAX}}}$). The presence of sustained EMG activity was used to indirectly highlight the presence of PICs (Bergquist et al. 2011b; Collins 2007). Finally, the EMG associated with the Pt_{Istim} was analyzed: the sum of the peak-to-peak amplitude of the H-reflex of the 3 triceps surae muscles (SOL + GL + GM) was calculated for each Pt_{Istim} ($\sum \text{HPt}_{\text{Istim}}$). The same calculation was performed for the M-wave associated to the Pt_{Istim} ($\sum \text{MPt}_{\text{Istim}}$) and the sum of these two electrophysiological responses was finally calculated ($\sum \text{EMGPt}_{\text{Istim}}$). This allowed to determine H-reflex contribution before each stimulation train ($\sum \text{HPt}_{\text{Istim}}/\sum \text{EMGPt}_{\text{Istim}}$) (Vitry et al. 2019).

Torque analysis. Torque evoked during MVIC and during the stimulation trains was recorded and analyzed offline. The mean value of MVICs (peak-to-peak amplitude) and the mean torque value developed during stimulation were considered. The mean torque value developed during the stimulation train was expressed as %MVIC mean value. Moreover, the torque-time integral of the entire 20-s stimulation train was calculated (TTIr). The theoretical torque-time integral was also estimated (TTIth). It corresponded to the integral of the first 2-s of the torque plateau multiplied by 10 and expresses the TTI that would be theoretically developed during this train without the presence of ET, fatigue or changes in the excitability threshold of motor axons. The ratio TTIr/TTIth was calculated in order to evaluate the presence or not of ET (ET corresponds to $\text{TTIr}/\text{TTIth} > 1$) (Vitry et al. 2019).

Statistical analysis. All data are expressed as mean $\pm$ standard deviation in text, and as mean $\pm$ standard error in figures. The normal distribution (Shapiro–Wilk test, $P > 0.05$) was checked for all variables to ensure that parametric analysis could be used. Because not all of the subjects developed ET at the two frequencies, different statistical analyses were performed. A two-way ANOVA [frequency (20 Hz vs 100 Hz) x time (pre vs post)] was performed to assess differences on electrophysiological data (H_{MAX}/M_{MAX} , $MatH_{MAX}/M_{MAX}$ and M_{MAX}) for subjects that developed ET at both frequencies ($n=9$). To reveal differences between TTIr and TTlth for these subjects, a two-way ANOVA [frequency (20 Hz vs 100 Hz) x TTIr vs TTlth] was performed. When a significant main or interaction effect was observed, the HSD Tukey post-hoc test was performed. For those same subjects ($n=9$), paired student's t-test was used to compare the frequency effect on TTIr/TTlth, P_{tstim} , stimulation train intensity, %MVIC developed during the stimulation trains, $RMS_{SUST}/RMS_{M_{MAX}}$ and sustained EMG activity duration.

Pre – post effect on D1 and HF ($H_{PSI50\%}/H_{50\%}$ and $H_{FAC50\%}/H_{50\%}$ ratios) was tested by a student's t-test. The following parameters were compared for each frequency separately ($n=11$ for 20 Hz and $n=12$ for 100 Hz): $H_{50\%}/M_{MAX}$, $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$, $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$, $H_{PSI50\%}/H_{50\%}$, $H_{FAC50\%}/H_{50\%}$, $MatH_{50\%}/M_{MAX}$, $MatH_{PSI50\%}/M_{MAX}$ and $MatH_{FAC50\%}/M_{MAX}$. Moreover, differences in slope and y-intercept of the linear relationship between H_{TEST}/M_{MAX} and H_{PSI} or H_{FAC}/M_{MAX} (for the three intensities tested) between the two protocols were tested by means of a student's t-test. In case of significant decrease of $H_{50\%}/M_{MAX}$ at post conditions, the theoretical value of $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ at pre conditions (i.e. $H_{PSI50\%th}$, $H_{FAC50\%th}$) was calculated and compared to the real pre value by means of a student's t-test. Finally, correlation between selected variables was tested with Pearson coefficient.

A significance level of $P < 0.05$ was accepted for all analyses. Effect sizes were calculated and are reported as partial eta squared (η_p^2) with small, moderate and large effects considered for $\eta_p^2 \geq 0.01$, ≥ 0.07 and ≥ 0.14 , respectively. All statistical tests were performed using Statistica software (Statsoft, version 7.1, Tulsa, OK, USA).

RESULTS

One subject has been excluded from the analyses because he did not develop ET at either frequency. Nine subjects developed ET for both stimulation frequencies (6 males, 3 females), whereas 6 subjects produced ET only for one of the two tested frequencies (3 at 20 Hz, 3 at 100 Hz). Finally, one subject developing ET only for the 20 Hz was excluded as facilitation could not be obtained at post conditions. Hence, results of the 9 subjects that developed ET for both

frequencies are compared between the two frequencies, while results of 11 subjects developing ET at 20 Hz and of 12 subjects developing ET at 100 Hz are compared for pre - post effect.

The two-way ANOVA revealed a significant interaction effect (frequency x time) for H_{MAX}/M_{MAX} ($F_{1,8} = 34.68$; $P < 0.001$; $\eta_p^2 = 0.81$) (Figure 1). Post-hoc analysis revealed that this parameter significantly decreased for the 20 Hz ($P < 0.01$; Pre: 0.50 ± 0.15 vs Post: 0.41 ± 0.15) and showed a non-significant increase for the 100 Hz ($P = 0.09$; Pre: 0.51 ± 0.15 vs Post: 0.55 ± 0.15). The two-way ANOVA also showed that $MathH_{MAX}/M_{MAX}$ was not significantly different between pre and post measurements ($F_{1,8} = 0.05$, $P = 0.82$, $\eta_p^2 = 0.007$) and M_{MAX} remained unchanged ($F_{1,8} = 0.97$; $P = 0.35$; $\eta_p^2 = 0.01$) after the stimulation train for both frequencies. Moreover, Pt_{stim} at pre conditions was not significantly different between the two frequencies ($P = 0.65$; $5.43 \text{ Nm} \pm 3.77$ for the 20 Hz and $4.95 \text{ Nm} \pm 4.22$ for the 100 Hz) and the %MVIC developed during the stimulation trains was similar between the two frequencies ($P = 0.95$; $21.7\% \pm 11.8$ for the 20 Hz and $21.6\% \pm 8.9$ for the 100 Hz). Finally, stimulation intensity was not different between each frequency ($P = 0.49$).

The two-way ANOVA [frequency (20 Hz vs 100 Hz) x TTIr vs TTlth] revealed a significant effect between TTIr and TTlth values ($F_{1,8} = 6.61$, $P = 0.03$, $\eta_p^2 = 0.45$), showing that the TTIr values were significantly higher than the TTlth values for both frequencies (TTIr: $531.15 \pm 351.78 \text{ Nm.s}$ vs TTlth: $442.23 \pm 270.73 \text{ Nm.s}$ for the 20 Hz stimulation train, TTIr: $526.78 \pm 274.17 \text{ Nm.s}$ vs TTlth: $448.87 \pm 221.78 \text{ Nm.s}$ for the 100 Hz stimulation train) (Figure 1). On the other hand, when TTIr/TTlth ratios were compared between the two frequencies by means of a t-test, no significant difference was observed ($P = 0.97$), suggesting that ET development was identical between the two frequencies. Interestingly, TTIr/TTlth was positively correlated with $\sum HPt_{stim}/\sum EMGPt_{stim}$ ($P = 0.03$; $r = 0.57$), indicating that subjects presenting the greater contribution of H-reflex in the initial MU recruitment, developed the higher ET.

Although sustained EMG activity duration was not statistically different between the two frequencies ($P = 0.10$; 20 Hz = $176.00 \text{ ms} \pm 166.95$ vs 100 Hz = $230.30 \text{ ms} \pm 144.39$), student's t-test on RMS_{SUST}/RMS_{MAX} revealed a significant difference between the two protocols ($P = 0.04$), with higher values after the 100 Hz stimulation train ($4.46 \times 10^{-3} \pm 3.80 \times 10^{-3}$ after the 20 Hz vs $8.57 \times 10^{-3} \pm 5.49 \times 10^{-3}$ after the 100 Hz) (Figure 1).

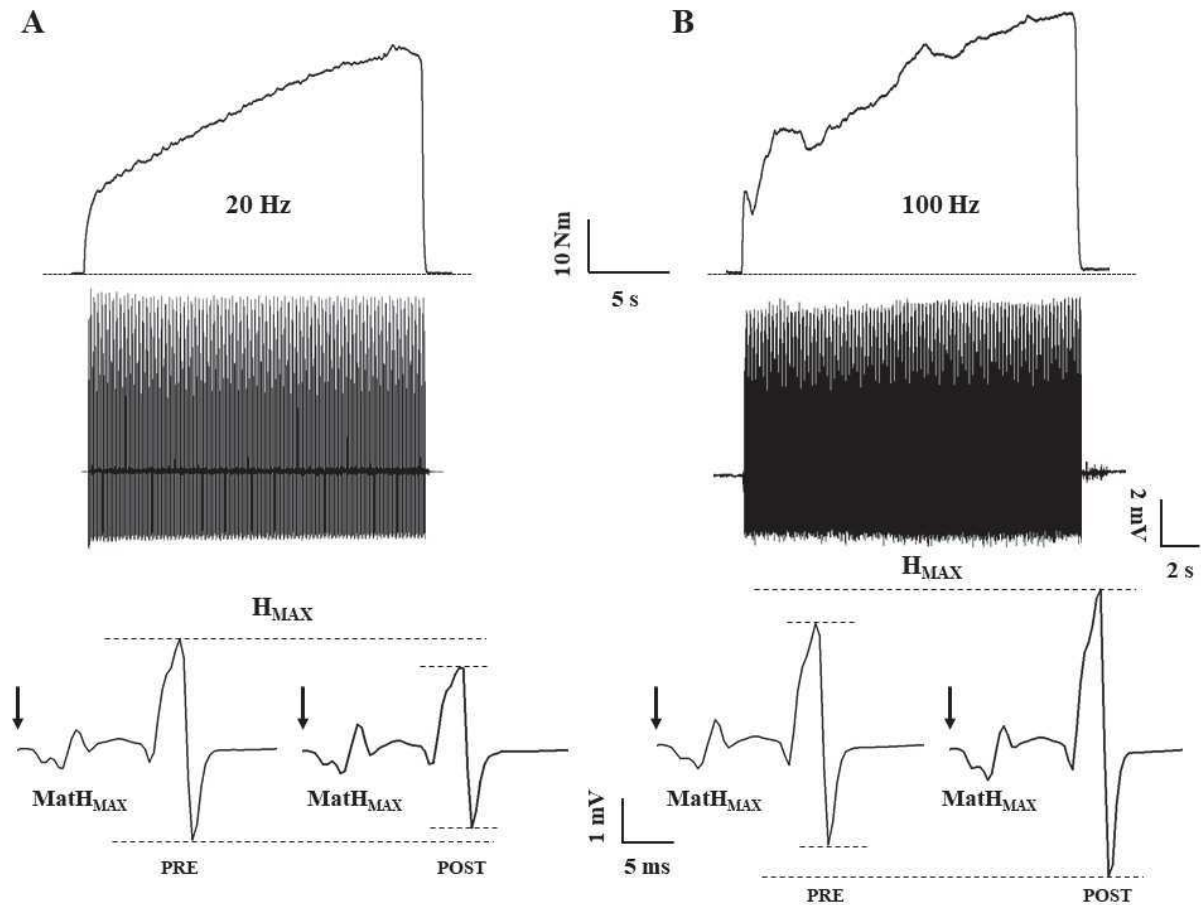


Figure 1: Typical torque and EMG recordings for the 20 Hz (A) and 100 Hz (B) trains. Upper panel depicts developed torque and the associated EMG activity during the stimulation train. After the 100 Hz stimulation train, although the duration of sustained EMG activity was not different between the two frequencies, its amplitude was of a greater magnitude than the one after the 20 Hz stimulation train. Lower panels show representative recordings of H_{MAX} before and after the stimulation train. A decrease of H_{MAX}/M_{MAX} was observed after the 20 Hz while after the 100 Hz a tendency to increase ($P=0.09$) was obtained. Arrows indicate the time of stimulation.

Concerning conditioning tests, for the 20 Hz, results showed a non-significant modulation of $H_{PSI50\%}/H_{50\%}$ and $H_{FAC50\%}/H_{50\%}$ ratios ($P = 0.32$ and $P = 0.64$, respectively), indicating absence of D1 and HF modulation at post conditions. Moreover, there was no significant difference for $MathH_{PSI50\%}/M_{MAX}$ and $MathH_{FAC50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.91$ and $P = 0.85$ respectively) between pre and post measurements. However, for the 20 Hz, student's t-test showed a significant decrease for $H_{50\%}/M_{MAX}$ between pre and post measurements ($P = 0.04$; Pre: 0.28 ± 0.07 vs Post: 0.25 ± 0.09), whereas $MathH_{50\%}/M_{MAX}$ was not modulated at post conditions ($P = 0.78$). This was accompanied by a significant decrease between pre and post

measurements for $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.01$; Pre = 0.33 ± 0.07 vs Post = 0.29 ± 0.08), whereas no significant difference was found for $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.36$; Pre = 0.21 ± 0.05 vs Post = 0.20 ± 0.07) (Figure 2). As $H_{50\%}/M_{MAX}$ significantly decreased, $H_{PSI50\%th}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%th}/M_{MAX}$ at pre were calculated for an $H_{50\%}/M_{MAX}$ obtained at post conditions. Student's t-test revealed a significant difference between pre values of $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%th}/M_{MAX}$ ($P = 0.02$; 0.33 ± 0.07 vs 0.29 ± 0.08 respectively), while there was no significant difference between $H_{FAC50\%th}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ obtained at post conditions ($P = 0.89$; 0.29 ± 0.08 vs 0.29 ± 0.08 respectively). This suggests that this decrease between pre and post measurements for $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ was due to changes in $H_{50\%}/M_{MAX}$. Finally, no significant difference was observed when the same estimation was performed for pre values of $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ and $H_{PSI50\%th}/M_{MAX}$ ($P = 0.28$; 0.21 ± 0.05 vs 0.20 ± 0.06 respectively). Parameters of the linear relationship (slope and y-intercept) and values of real and theoretical values of inhibition and facilitation are presented in Table 1.

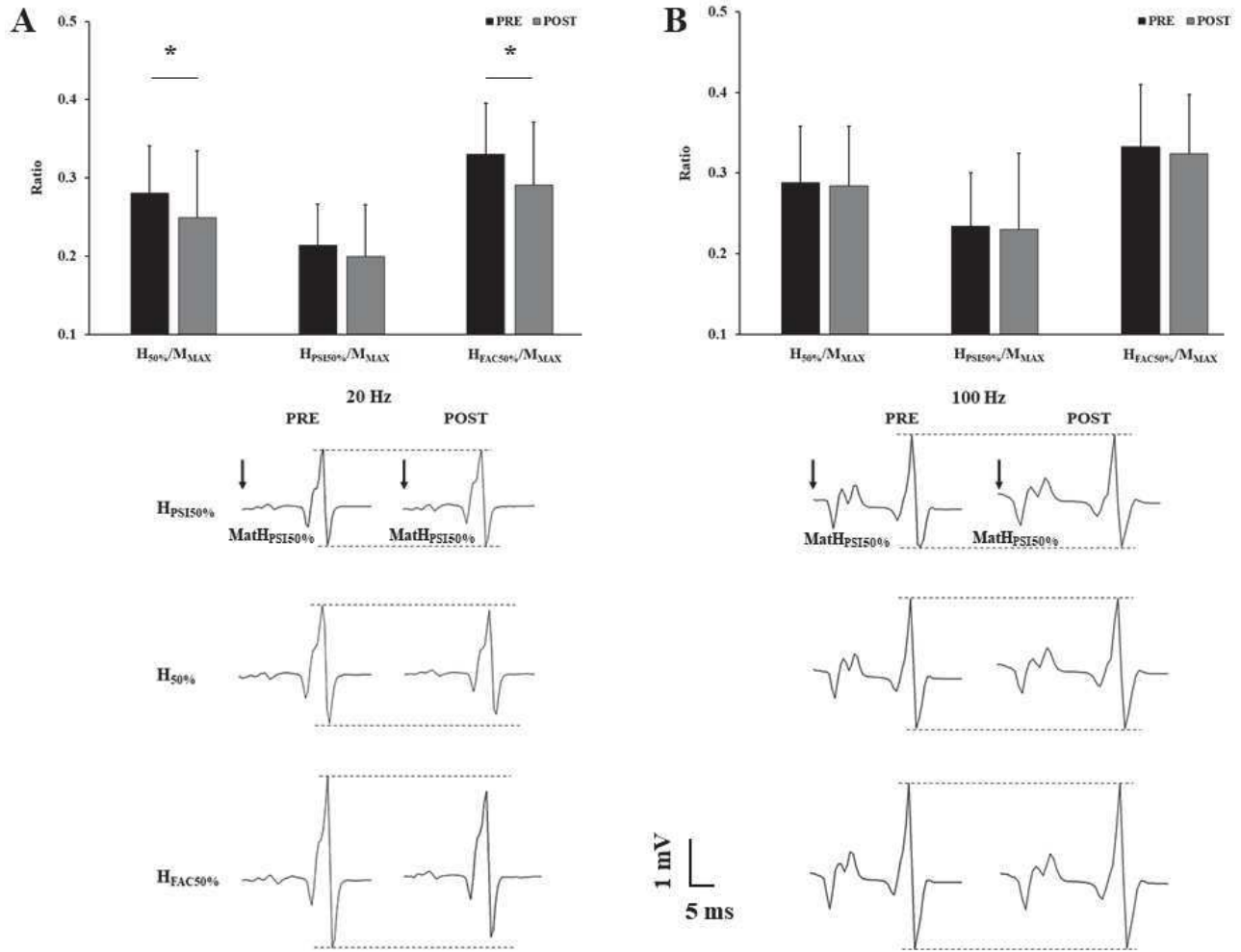


Figure 2: $H_{50\%}/M_{MAX}$, $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ values before and after the 20 Hz (A) and 100 Hz (B) stimulation trains. On the upper panel, mean values of each parameter are depicted, whereas on the lower panel, recordings of a representative subject are represented for $H_{50\%}$, $H_{PSI50\%}$ and $H_{FAC50\%}$. Arrows indicate the time of stimulation. Statistical analysis revealed a significant difference for $H_{50\%}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ with a decrease only for the 20 Hz stimulation at post conditions. Data are means $\pm$ SD. * $P < 0.05$, significantly different from pre value.

For the 100 Hz, statistical analysis revealed no significant changes of $H_{PSI50\%}/H_{50\%}$ and $H_{FAC50\%}/H_{50\%}$ ratios ($P = 0.41$; Pre: 0.81 ± 0.11 vs Post: 0.79 ± 0.15 and $P = 0.62$; Pre: 1.16 ± 0.08 vs Post: 1.15 ± 0.07 , respectively), indicating absence of D1 HF modulation at post conditions. Moreover, there was no difference for $MatH_{PSI50\%}/M_{MAX}$ and $MatH_{FAC50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.12$ and $P = 0.12$ respectively) between pre and post measurements. This was accompanied by a non-modification of $H_{50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.85$; Pre: 0.29 ± 0.07 vs Post: 0.28 ± 0.07) and of $MatH_{50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.14$) between pre and post measurements. Moreover, statistical analysis

did not reveal any significant pre-post effect for $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.84$; Pre: 0.23 ± 0.07 vs Post: 0.23 ± 0.09), and $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ ($P = 0.73$; Pre: 0.33 ± 0.08 vs Post: 0.32 ± 0.07) (Figure 2). Since $H_{50\%}/M_{MAX}$ was not significantly modulated, statistical analysis did not reveal any significant difference between real and theoretical inhibition and facilitation values. Please see Table 1 for detailed results. It can be noted that student's t-test did not reveal significant difference between the two protocols for slope (Inhibition: $P = 0.90$; 20 Hz: 0.88 ± 0.16 vs 100 Hz: 0.87 ± 0.26 ; Facilitation: $P = 0.75$; 20 Hz: 1.11 ± 0.17 vs 100 Hz: 1.15 ± 0.31) and y-intercept (Inhibition: $P = 0.89$; 20 Hz: 0.05 ± 0.05 vs 100 Hz: 0.05 ± 0.05 ; Facilitation: $P = 0.15$; 20 Hz: 0.04 ± 0.03 vs 100 Hz: 0.07 ± 0.07).

Table 1: Parameters of the linear relationship for each subject permitting to estimate theoretical pre values for $H_{INH50\%}/M_{MAX}$ and $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$.

20 HZ												
INHIBITION							FACILITATION					
Subjects	Slope	Y-Intercept	R ²	P	$H_{PSI50\%db}/M_{MAX}$ Pre	$H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ Pre	Slope	Y-Intercept	R ²	P	$H_{FAC50\%db}/M_{MAX}$ Pre	$H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ Pre
#1	0.68	0.01	0.97	0.11	0.11	0.16	1.31	0.01	1.00	0.01	0.20	0.31
#2	0.69	0.03	1.00	0.03	0.15	0.17	1.18	0.01	0.98	0.08	0.20	0.22
#3	0.96	0.14	0.90	0.20	0.26	0.16	1.03	0.04	1.00	0.03	0.47	0.42
#4	0.67	0.06	0.98	0.09	0.20	0.21	1.36	0.04	0.93	0.17	0.25	0.29
#5	0.84	0.02	0.99	0.06	0.19	0.23	1.16	0.02	1.00	0.00	0.30	0.38
#6	0.77	0.02	0.99	0.07	0.12	0.19	0.90	0.06	1.00	0.00	0.18	0.25
#7	1.06	0.05	1.00	0.02	0.30	0.28	0.84	0.10	1.00	0.04	0.38	0.36
#8	1.15	0.10	0.99	0.06	0.26	0.33	1.14	0.02	0.99	0.07	0.33	0.42
#9	0.93	0.00	0.98	0.10	0.26	0.24	1.09	0.00	1.00	0.04	0.30	0.29
#10	1.01	0.10	0.92	0.18	0.17	0.18	1.24	0.04	0.99	0.07	0.29	0.34
#11	0.87	0.04	1.00	0.01	0.15	0.20	0.97	0.08	0.95	0.14	0.28	0.35
MEAN $\pm$ SD	0.88 $\pm$ 0.16	0.05 $\pm$ 0.05			0.20 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.05	1.11 $\pm$ 0.17	0.04 $\pm$ 0.03			0.29 $\pm$ 0.08	0.33 $\pm$ 0.06 *
100 HZ												
INHIBITION							FACILITATION					
Subjects	Slope	Y-Intercept	R ²	P	$H_{PSI50\%db}/M_{MAX}$ Pre	$H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ Pre	Slope	Y-Intercept	R ²	P	$H_{FAC50\%db}/M_{MAX}$ Pre	$H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ Pre
#1	0.76	0.04	0.99	0.05	0.13	0.17	1.07	0.05	1.00	0.01	0.28	0.35
#2	0.74	0.01	1.00	0.04	0.19	0.16	1.24	0.02	1.00	0.03	0.27	0.22
#3	0.77	0.05	0.99	0.07	0.18	0.24	1.04	0.03	1.00	0.01	0.35	0.41
#4	1.44	0.11	0.99	0.05	0.24	0.22	0.80	0.06	0.99	0.05	0.26	0.26
#5	0.59	0.07	1.00	0.03	0.23	0.27	1.41	0.08	0.99	0.05	0.30	0.39
#6	1.06	0.08	0.93	0.17	0.17	0.20	0.79	0.10	0.87	0.23	0.29	0.32
#7	1.00	0.02	1.00	0.01	0.46	0.33	0.91	0.05	1.00	0.01	0.50	0.38
#8	0.40	0.20	0.82	0.28	0.30	0.34	1.83	0.28	1.00	0.01	0.20	0.43
#9	0.98	0.02	0.99	0.07	0.27	0.19	0.98	0.03	1.00	0.04	0.32	0.22
#10	0.87	0.01	1.00	0.03	0.31	0.31	1.29	0.05	0.96	0.13	0.39	0.38
#11	1.01	0.05	0.96	0.13	0.24	0.23	0.94	0.03	0.96	0.13	0.24	0.40
#12	0.77	0.01	1.00	0.02	0.17	0.15	1.43	0.05	0.96	0.13	0.28	0.24
MEAN $\pm$ SD	0.87 $\pm$ 0.26	0.05 $\pm$ 0.05			0.24 $\pm$ 0.09	0.23 $\pm$ 0.07	1.15 $\pm$ 0.31	0.07 $\pm$ 0.07			0.31 $\pm$ 0.08	0.33 $\pm$ 0.08

The linear relationship (using slope and Y-intercept) allowed the calculation of the theoretical conditioned H reflex (the amount of inhibition or facilitation that would be obtained at pre conditions for an H_{TEST} amplitude similar to the one obtained at post conditions, i.e. $H_{PSI50\%th}/M_{MAX}$, $H_{FAC50\%th}/M_{MAX}$). $H_{PSI50\%th}/M_{MAX}$: theoretical inhibited H-reflex, $H_{FAC50\%th}/M_{MAX}$: theoretical facilitated H-reflex. $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$: inhibited H-reflex. $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$: facilitated H-reflex. *, $P < 0.05$, significantly different from theoretical values.

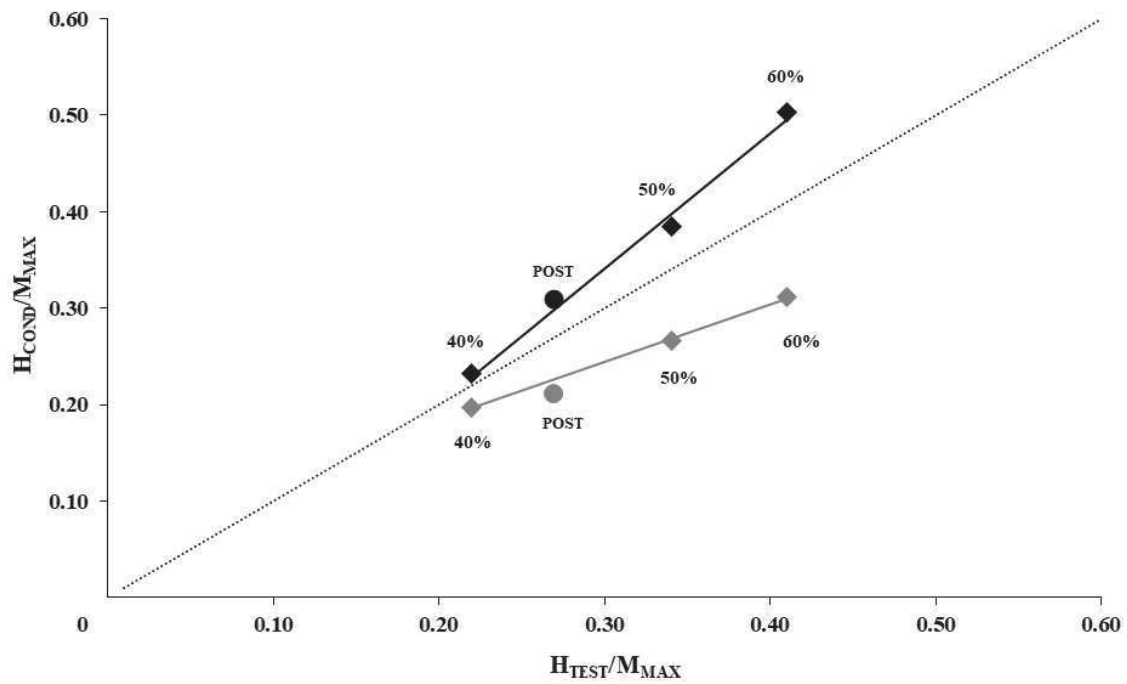


Figure 3: Linear relationship between $H_{50\%}/M_{MAX}$ and conditioned H reflex (inhibited or facilitated)/ M_{MAX} for a typical subject. The black line represents the linear relationship for the facilitation and the grey line represents this relationship for the inhibition. Circles depict pre values for three different H_{TEST} intensities (40, 50 and 60% H_{MAX}) while diamonds show post value of facilitation or inhibition.

DISCUSSION

The aim of the present study was to examine the mechanisms responsible for the distinct spinal excitability modulation observed after stimulation trains inducing ET development and delivered at different stimulation frequencies. Main results show that spinal excitability was down-regulated after a stimulation train delivered at 20 Hz while it tended to increase after the 100 Hz train. This was not accompanied by a concomitant modulation of D1 nor HF. On the other hand, sustained EMG activity following the stimulation trains was of a greater magnitude after the 100 Hz stimulation.

In the present study, ET, as evidenced by the $TTIr/TTIth$ ratio (Vitry et al. 2019), was successfully obtained in the majority of the subjects and was not different between the two frequencies. Moreover, the positive correlation observed between $TTIr/TTIth$ and $\sum HPT_{tstim}/\sum EMGPt_{tstim}$ indicates that the indirect MU recruitment through spinal loops is a prerequisite for ET occurrence, as previously reported (Vitry et al. 2019). This ET development during the stimulation trains delivered at both low and high frequency induced distinct modulation on spinal excitability. Indeed, H_{MAX}/M_{MAX} was decreased after the 20 Hz train, while it was not significantly increased after the 100 Hz train. These modulations can be explained by increased presynaptic inhibitory mechanisms (Hultborn et al. 1987; Rudomin and Schmidt 1999) or by enhanced motoneurons' response to a given synaptic input due to triggering of PICs (Lee 2002; Prather et al. 2001). Primary afferent depolarizing interneuron, one of the components of presynaptic inhibitory mechanisms, was evaluated by D1 and HF (Pierrot-Deseilligny and Burke 2005), while presence of PICs was indirectly evaluated in the present study by the EMG activity observed after the stimulation trains (Bergquist et al. 2011b; Collins 2007; Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009; Neyroud et al. 2017).

Concerning spinal excitability after the 20 Hz train, results show a decrease in H_{MAX}/M_{MAX} , while $H_{PSI50\%}/H_{50\%}$ and $H_{FAC50\%}/H_{50\%}$ ratios remained unchanged. These ratios, commonly used to evaluate D1 and HF respectively, indicate that the repetitive activation of Ia afferents during the stimulation train did not entail increased inhibitory action of the presynaptic interneuron. However, the fact that the test reflex alterations elicited by a given conditioning stimulus depend not only on the conditioning volley, but also on the amplitude of the H_{TEST} itself (in the present case $H_{50\%}$), test reflexes should be of the same amplitude between conditions in order to assess pre-post effects (Crone et al. 1990). In the present study, $H_{50\%}/M_{MAX}$ significantly decreased at post measurements and this was accompanied by a significant decrease of $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$, while $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ remained unchanged. Because, re-evaluating H_{TEST} during post-measurement can be time-consuming and cancel or mask the eventual transitory modulations induced, theoretical values of $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ and $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ for an H_{TEST} amplitude equivalent to the one obtained at post conditions, were calculated according to the linear relationship observed between these variables during pre-measurements (Figure 3). No difference was observed between real and theoretical pre values for $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$, while theoretical values were significantly lower than pre real $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ values but not different from post $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ values. This indicates that the apparent decrease of $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ was mainly due to the diminished $H_{50\%}/M_{MAX}$ amplitude and not to changes in motoneurons' excitability. The decreased spinal excitability observed at

post conditions can hence more likely be explained by increased homosynaptic post-activation depression of the Ia terminals (HPAD) (Hultborn et al. 1987), leading to depletion of neurotransmitters release in the Ia-alpha motoneuron synapse as a result of the repetitive solicitation of this spinal loop (Hultborn et al. 1996). This is further reinforced by the non-modification of $H_{PSI50\%}/M_{MAX}$ despite a decrease of $H_{FAC50\%}/M_{MAX}$ and H_{TEST} indicating that the presynaptic mechanism (HPAD) must have affected synaptic input but not motoneurons' responsiveness to a given excitation.

Contrary to the 20-Hz stimulation, the 100 Hz train induced a non-significant up-regulation of spinal excitability. This up-regulation cannot be ascribed to modulation of presynaptic inhibitions, as evidenced by the non-modification of D1, HF and H_{TEST} at post conditions. The high rate of Ia afferents activation during the 100-Hz stimulation could have induced a greater HPAD phenomenon, as compared to the 20-Hz train. Surprisingly, not only H_{TEST} amplitude was not diminished at post conditions, but also H_{MAX}/M_{MAX} tended to increase. Taken together these results suggest that increasing the rate of Ia afferents activation gives rise to physiological phenomena inducing increased motoneurons' excitability that compensate the inhibitory effect of repetitive Ia afferents discharge. Increased motoneurons' excitability can be obtained through the triggering of PICs (Heckman et al. 2005) that are mediated by dendritic calcium channels sensitive to neuromodulatory input originating from the brainstem's caudal raphe nucleus and locus coeruleus (Heckman et al, 2009). Considering that these brainstem regions respond to electrical stimulation applied to hindlimb nerves (Moolenaar et al. 1976), it can be suggested that the Ia afferents discharge evoked by the stimulation train could have reached the brainstem and modulate the descending neuromodulatory input. This modulation may have led to PICs activation entailing amplification of synaptic inputs and sustained motoneuronal membrane depolarization. Sustained EMG activity after the 100-Hz train being greater as compared to the one observed after the 20-Hz train gives an indirect evidence of greater PICs activation and enhanced motoneuron response to a given synaptic input (Bergquist et al. 2011b; Collins 2007; Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009; Neyroud et al. 2017). This phenomenon was of a sufficient magnitude to counteract HPAD presence.

To conclude, present results corroborate the hypothesis advanced by a previous study (Vitry et al. 2019) on the mechanisms responsible for the distinct spinal excitability modulation according to the stimulation frequency in presence of ET development. NMES applied at low stimulation frequency induced a decrease in spinal excitability that could be attributed to increased HPAD due to repetitive Ia afferents discharge. On the other hand, the high stimulation frequency entailed increased spinal excitability, more likely ascribed to enhanced motoneuron

excitability as a result of PICs triggering. These results suggest the compensatory character of neuromodulation when synaptic input to alpha motoneurons is exaggerated (ex. 100Hz stimulation), in order to maintain motoneuron's responsiveness.

REFERENCES

- Bennett DJ, Hultborn H, Fedirchuk B, Gorassini M (1998) Synaptic Activation of Plateaus in Hindlimb Motoneurons of Decerebrate Cats. *J Neurophysiol* 80:2023–2037, 2023–2037.
- Bergquist AJ, Clair JM, Lagerquist O, et al (2011) Neuromuscular electrical stimulation: Implications of the electrically evoked sensory volley. *Eur J Appl Physiol* 111:2409–2426
- Collins DF (2007) Central contributions to contractions evoked by tetanic neuromuscular electrical stimulation. *Exerc Sport Sci Rev* 35:102–109
- Collins DF, Burke D, Gandevia SC (2001) Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. *J Neurosci* 21:4059–65
- Collins DF, Burke D, Gandevia SC (2002) Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. *J Physiol* 538:289–301
- Crone C, Hultborn H, Mazieres L, et al (1990) Sensitivity of monosynaptic test reflexes to facilitation and inhibition as a function of the test reflex size: a study in man and the cat. *Exp Brain Res* 81:35–45.
- Forget R, Pantieri R, Pierrot-Deseilligny E, et al (1989) Facilitation of quadriceps motoneurons by group I afferents from pretibial flexors in man. *Exp Brain Res* 78:10–20.
- Heckman CJ, Gorassini MA, Bennett DJ (2005) Persistent inward currents in motoneuron dendrites: Implications for motor output. *Muscle and Nerve* 31:135–156.
- Hultborn H, Illert M, Nielsen J, et al (1996) On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects. *Exp brain Res* 108:450–462.
- Hultborn H, Meunier S, Morin C, Pierrot-Deseilligny E (1987) Assessing changes in presynaptic inhibition of I a fibres: a study in man and the cat. *J Physiol* 389:729–756
- Kiernan MC, Lin CS-Y, Burke D (2004) Differences in activity-dependent hyperpolarization in human sensory and motor axons. *J Physiol* 558:341–349
- Lagerquist O, Walsh LD, Blouin J-S, et al (2009) Effect of a peripheral nerve block on torque produced by repetitive electrical stimulation. *J Appl Physiol* 107:161–167
- Lee RH (2002) Influence of Active Dendritic Currents on Input-Output Processing in Spinal Motoneurons In Vivo. *J Neurophysiol* 89:27–39.
- Lee RH, Heckman CJ (1996) Influence of voltage-sensitive dendritic conductances on bistable firing and effective synaptic current in cat spinal motoneurons in vivo. *J Neurophysiol* 76:2107–2110.
- Moolenaar GM, Holloway JA, Trough CO (1976) Responses of caudal raphe neurons to peripheral somatic stimulation. *Exp Neurol* 53:304–313.
- Neyroud D, Grosprêtre S, Gondin J, et al (2017) Test-retest reliability of wide-pulse high-

- frequency neuromuscular electrical stimulation evoked force. *Muscle Nerve* 57:E70-E77.
- Pierrot-Deseilligny E, Burke D (2005) The circuitry of the human spinal cord: its role in motor control and movement disorders. *Brain*.
- Prather JF, Powers RK, Cope TC (2001) Amplification and linear summation of synaptic effects on motoneuron firing rate. *J Neurophysiol* 85:43–53
- Rudomin P, Schmidt RF (1999) Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 129:1–37.
- Schieppati M (1987) The Hoffmann reflex: A means of assessing spinal reflex excitability and its descending control in man. *Prog Neurobiol* 28:345–376.
- Vanderthommen M, Duteil S, Wary C, et al (2003) A comparison of voluntary and electrically induced contractions by interleaved 1H- and 31P-NMRS in humans. *J Appl Physiol* 94:1012–1024
- Veale JL, Mark RF, Rees S (1973) Differential sensitivity of motor and sensory fibres in human ulnar nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75–86
- Vitry F, Martin A, Deley G, Papaiordanidou M (2019) Effect of reflexive activation of motor units on torque development during electrically-evoked contractions of the triceps surae muscle. *J Appl Physiol* 126:386–392

5. Résumé et synthèse

L'objectif de cette étude était de déterminer les mécanismes responsables de la modulation de l'excitabilité spinale après des trains de stimulation délivrés à deux fréquences différentes induisant de l'extra force. Premièrement, ces résultats ont confirmé les résultats de l'étude précédente, à savoir une diminution de l'excitabilité spinale après un train de stimulation à 20 Hz induisant de l'extra force et une tendance à l'augmentation de l'excitabilité spinale après un train de stimulation à 100 Hz induisant de l'extra force. Ces résultats n'étaient pas accompagnés par une modulation concomitante de l'inhibition, ni de la facilitation. D'autre part, l'activité EMG soutenue, développée après les trains de stimulation était d'une magnitude supérieure après la stimulation à 100 Hz. La diminution de l'excitabilité spinale à 20 Hz pourrait être associée à une augmentation du HPAD, tandis que ce phénomène pourrait être masqué par l'activation des PIC suite au train à 100 Hz.

VI. DISCUSSION GENERALE

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier l'impact des protocoles WPHF sur le système neuromusculaire. Initialement, les effets lors de leur application aiguë, en terme de fatigue engendrée, ont été étudiés. Par la suite, nous nous sommes intéressés aux effets de ces protocoles novateurs lors d'une application chronique sur les gains de force et les adaptations nerveuses induites. Ces deux premières études ont permis de mettre en évidence l'importance du phénomène d'extra force sur les adaptations induites. Par conséquent, les deux dernières études de ce travail de thèse se sont intéressées à ce phénomène d'extra force. D'abord, par l'étude des conditions permettant son développement, puis par l'investigation des modulations de l'excitabilité spinale induites par ce phénomène.

La première étude a examiné les effets de la fréquence (20 Hz et 100 Hz) sur la fatigue neuromusculaire du triceps sural après une session d'électrostimulation appliquée sur le nerf tibial. Contrairement aux protocoles classiquement utilisés combinant des petites largeurs d'impulsion associées à des intensités de stimulation maximales tolérées, induisant un recrutement direct des UM via l'activation des axones moteurs, nous avons testé des protocoles utilisant de grandes largeurs d'impulsions et de faibles intensités de stimulation, induisant un recrutement indirect des UM via la dépolarisation des afférences sensorielles. Les résultats ont montré une diminution similaire de la CMV après les deux protocoles de stimulation à 20 Hz et à 100 Hz, tandis que les pertes de force au cours des trains de stimulation étaient plus importantes pendant le protocole à haute fréquence par rapport à celui utilisant une basse fréquence de stimulation. Ce résultat s'explique par l'importante sollicitation répétée des afférences lors des trains de stimulation à 100 Hz pouvant induire d'une part une plus grande fatigue des UM sollicitées et d'autre part une réduction du nombre d'UM sollicitées à cause de changement de l'excitabilité axonale (Bostock et Bergmans 1994; Kiernan et al. 1996; Vagg et al. 1998). De plus, cette étude a révélé que les sujets qui ont développé initialement de l'extra force (rapport TTI réel/TTI théorique du premier train de stimulation), quelle que soit la fréquence de stimulation, étaient ceux qui avaient perdu le plus en force (évaluée par la CMV) entre avant et après la session d'électrostimulation. Le phénomène d'extra force a été considéré uniquement pour le premier train de stimulation, puisque ce phénomène physiologique transitoire est insuffisant pour maintenir le même niveau de force durant toute une session en raison de l'apparition progressive d'autres phénomènes physiologiques qui sont notamment observés lors des hautes fréquences de stimulation.

Cette première étude a mis en évidence l'importance de séparer d'une part les phénomènes intervenant au cours d'une session d'électrostimulation, et d'autre part l'impact sur la capacité de production de force maximale. Ainsi le choix des basses ou des hautes fréquences de stimulation va dépendre de l'objectif ciblé. En effet, dans le cadre d'une application clinique, le choix des basses fréquences serait plus pertinent afin de maintenir un niveau de force important tout au long de la session d'électrostimulation, appliquée à des fins fonctionnelles. Tandis que dans le cadre de protocoles pour les sportifs, les hautes fréquences peuvent être davantage utilisées, étant donné que la perte de force au cours d'une session a le même impact sur la CMV. Ces résultats qui démontrent que les sujets ayant développé le plus d'extra force sont ceux qui ont perdu le plus en force nous amènent à nous demander si le fait de développer de l'extra force de manière répétée pendant plusieurs sessions d'électrostimulation permettrait d'obtenir des gains de force ?

De ce fait, l'étude de l'application chronique de ces mêmes protocoles de stimulation (à 20 Hz et à 100 Hz) a fait l'objet de la seconde étude de ce travail de thèse. Les résultats sont novateurs par le fait que pour la première fois, un entraînement en électrostimulation à faible intensité de stimulation a montré des gains de force importants, du même ordre que les précédentes études ayant réalisé des entraînements par électrostimulation. La stimulation nerveuse utilisée dans notre étude, qui favorise un recrutement indirect des UM via les afférences sensorielles pourrait être à l'origine des gains importants observés lors de ce travail de thèse. De plus, ces paramètres de stimulation associés à la stimulation nerveuse ont entraîné une sollicitation importante des boucles spinales, pouvant ainsi expliquer l'augmentation de l'excitabilité spinale à l'issue des 15 sessions d'entraînement. Cette étude est à notre connaissance la première à observer des adaptations survenant au niveau spinal après un entraînement en électrostimulation.

Les résultats de cette seconde étude ont également montré que les sujets qui développaient initialement de l'extra force (rapport TTI réel/TTI théorique du premier train de stimulation), quelle que soit la fréquence de stimulation, étaient ceux qui avaient progressé le plus en force (évaluée par la CMV) après les 15 sessions d'entraînement. Même si aucune relation n'a pu être établie entre les sujets ayant perdu le plus en force après l'application aiguë, et ceux ayant progressé le plus en force après l'entraînement en électrostimulation, il n'en reste pas moins que ces résultats font de l'extra force un phénomène unique ayant un impact important durant une session unique ou des sessions répétées d'électrostimulation.

Par conséquent, afin de mieux comprendre ce phénomène d'extra force, la troisième étude avait pour objectif d'investiguer les conditions permettant son développement en modulant la fréquence et l'intensité de stimulation. Afin d'expliquer l'importante variabilité interindividuelle observée durant le développement de l'extra force, plusieurs paramètres neuromusculaires, ainsi que le recrutement initial des UM pour la somme des trois muscles du triceps sural ont été évalués. Les méthodes de calcul utilisées jusqu'à présent sont variées et ne tiennent pas compte des différences individuelles entre les profils de force, puisque certains sujets vont atteindre des pics de force au début, au milieu ou à la fin d'un train de stimulation. De ce fait, ce travail de thèse a proposé une méthode de calcul de l'extra force par le rapport TTI réel/TTI théorique. Un rapport supérieur à 1 indique la présence d'extra force, et inversement lorsqu'il était inférieur à 1. Cette méthode de calcul de l'extra force permet de considérer tous les différents profils de génération de force. De plus, par la technique de la secousse à l'intensité de la stimulation, permettant de recueillir l'activité EMG des trois muscles, le recrutement initial des UM des muscles participant à la contraction musculaire du triceps sural (soléaire, gastrocnémien latéral et médial) a été enregistré. Les résultats ont ainsi révélé que lorsque le recrutement initial des UM était indirect, le phénomène d'extra force se produisait. Ces résultats viennent corroborer les études ayant démontré que l'extra force était supprimée lors d'une anesthésie du nerf moteur (Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009), bloquant ainsi le retour afférent en direction de la moelle épinière (Collins et al. 2001, 2002). D'autre part, cette étude a permis de montrer que l'extra force pouvait survenir pour toutes les fréquences de stimulation testées, suggérant ainsi que ce paramètre n'est pas un facteur principal du développement de l'extra force, contrairement au retour afférent. Les résultats de cette troisième étude ont également montré une modulation du rapport Hmax/Mmax selon la fréquence de stimulation. Ce rapport était diminué à 20 Hz et était augmenté à 100 Hz. Ces modulations suggèrent que le développement de l'extra force affecte l'excitabilité spinale et que ces changements dépendent de la fréquence de stimulation.

Par conséquent, la quatrième étude de ce travail avait pour objectif d'examiner plus précisément les mécanismes à l'origine de ces modulations. Tout d'abord, les résultats de la précédente étude ont été reproduits, à savoir le développement de l'extra force lors d'un train de stimulation, à 20 Hz et à 100 Hz, accompagné de modification de l'excitabilité spinale au repos, qui a diminué après le train à 20 Hz et qui tendait à augmenter après le train à 100 Hz. Les ratios classiquement utilisés pour évaluer l'inhibition présynaptique via la technique d'inhibition D1 (i.e $H_{PSI50\%}/H_{50\%}$) (Mizuno et al. 1971), et par la méthode de facilitation des

projections hétéronomes monosynaptiques la HF (i.e $H_{FAC50\%}/H_{50\%}$) (Johannsson et al. 2015) n'ont pas été modifiés pour les deux fréquences de stimulation. La diminution de l'excitabilité spinale à 20 Hz pourrait ainsi être probablement expliquée par le phénomène de HPAD (Hultborn et al. 1987), tandis que le maintien de l'excitabilité spinale après le 100 Hz pourrait être expliqué par des phénomènes physiologiques entraînant une augmentation de l'excitabilité des motoneurones, qui compenserait les inhibitions présynaptiques. En effet, l'activité EMG après le train de stimulation à 100 Hz était supérieure comparée à celle observée après le train de stimulation à 20 Hz, suggérant indirectement une activation des PIC, ayant engendré une réponse accrue des motoneurones (Collins 2007; Collins et al. 2001; Lagerquist et al. 2009; Neyroud et al. 2017). Ce phénomène était d'une ampleur suffisante pour masquer les effets du HPAD.

De plus, une nouvelle méthode dans l'étude des mécanismes d'inhibition présynaptique a été mise au point lors de ce travail. L'amplitude du réflexe H non conditionné (H_{TEST}) doit être de même amplitude lors des mesures avant et après, afin de pouvoir comparer les différences d'inhibition et de facilitation. Ainsi, afin de faire face à un possible changement de l'amplitude du H_{TEST} en post test, nous avons testé initialement trois amplitudes différentes (40, 50 et 60% de H_{MAX}), et uniquement l'amplitude correspondant à 50% du H_{MAX} en post test. Ces différentes amplitudes ont montré une relation linéaire significative entre H_{TEST}/M_{MAX} et le réflexe H conditionné (inhibé ou facilité)/ M_{MAX} . Cette relation a permis de calculer le réflexe H théorique conditionné initial (correspondant à la quantité d'inhibition ou de facilitation qui serait obtenue dans les conditions initiales pour une amplitude de H_{TEST} similaire à celle obtenue lors des post test). Cette méthode originale qui permet de s'affranchir des éventuelles modulations du H_{TEST} pourrait être confirmée par des études futures incluant plusieurs intensités de stimulation initiales, afin de confirmer la relation linéaire entre le réflexe H non conditionné et le réflexe H conditionné.

Bien que les résultats soient prometteurs en termes d'applications dans les domaines cliniques et sportifs, suite aux gains de forces obtenus après l'entraînement, malgré l'utilisation de faibles intensités de stimulation, quelques limites peuvent cependant être émises concernant les résultats de ces travaux de thèse. Par exemple, l'importante variabilité entre les sujets des deux groupes d'entraînement concernant les gains de force obtenus à l'issue des 15 sessions d'entraînement. En effet, certains sujets ont atteint des augmentations de force de près de 70% de la CMV, tandis que d'autres ont régressé de l'ordre de 20%. Malgré cette importante variabilité au niveau des gains de force, les résultats suggèrent que les sujets qui développaient

de l'extra force, sont ceux qui ont le plus progressé en force après l'entraînement. De plus, ces résultats étaient accompagnés par des adaptations nerveuses distinctes entre les deux groupes d'entraînements, tandis qu'aucune modification n'a été observée pour le groupe contrôle.

D'autre part, les résultats de la première étude de ces travaux de thèse ont montré de faibles variations concernant la CMV (diminution de 6%) ou encore le niveau d'activation (diminution de 2%). Il ne peut pas être exclu que ces variations, même significatives, soient dues au bruit physiologique. Par conséquent, une étude de reproductibilité pourrait permettre de renforcer ces résultats et d'exclure cette hypothèse.

Enfin, une dernière limite peut être relevée concernant les mécanismes mis en avant pour expliquer les résultats des présents travaux. En effet, tout au long de ce travail de thèse nous nous sommes focalisés uniquement sur le rôle des afférences Ia. Néanmoins, bien que ces afférences soient prédominantes, il existe également d'autres types d'afférences susceptibles d'être sollicitées lors de la stimulation du nerf moteur, tels que les afférences Ib qui sont issus des organes tendineux de Golgi et qui transmettent des informations sur la tension exercée par le muscle (Gandevia, 2001), les afférences II comme les Ia proviennent des fuseaux neuromusculaires et renseignent le système nerveux central sur la longueur et les variations de longueur des muscles (Gandevia, 2001). Enfin, les afférences III (mécano- et métabo-sensibles) et IV (métabo-sensibles) peuvent être activées par des agents chimiques associées à la douleur musculaire, ou impliqués dans la fatigue musculaire (Gandevia, 2001).

Malgré ces limites, ces résultats donnent lieu à des perspectives prometteuses d'un point de vue de l'application clinique. Tout d'abord, ces protocoles ont montré leur efficacité, à travers l'utilisation de faibles intensités de stimulation qui permettent de diminuer de manière importante l'inconfort pour les utilisateurs, comparativement aux hautes intensités de stimulation utilisées jusqu'à présent qui constituaient une limite majeure dans l'utilisation de l'électrostimulation. De plus, la stimulation nerveuse très rarement utilisée jusqu'à présent, pourrait présenter des avantages non négligeables dans les domaines cliniques et sportifs par rapport à la stimulation musculaire. En effet, la réponse musculaire à une stimulation nerveuse est bien moins variable que celle obtenue lors d'une stimulation musculaire. De plus, cette technique est également facilement applicable, car elle nécessite simplement de changer le positionnement des électrodes de stimulation, en sachant que la plupart des nerfs moteurs qui innervent les principaux groupes musculaires des membres supérieurs ou inférieurs sont facilement accessibles via une stimulation de surface. De plus, l'utilisation de ces modalités de stimulation, favorisant un important retour afférent et entraînant une augmentation de

l'excitabilité spinale pour les protocoles à 100 Hz, pourraient s'avérer très prometteuses chez des patients blessés médullaires dans le cadre d'une lésion incomplète, afin de solliciter les circuits spinaux via les boucles réflexes. Les protocoles à 20 Hz pourraient être utilisés pour un public fragile dans le cadre d'une tâche prolongée (maintien de la force tout au long d'une session), puisqu'ils ne sont pas plus fatiguant que les protocoles à 100 Hz et permettent les mêmes gains de force lors de leur application répétée.

Enfin, malgré ces paramètres de stimulation (grandes largeurs d'impulsions, faibles intensités de stimulation, stimulation nerveuse) favorisant un recrutement indirect des UM, certains sujets en fonction de leur neuroanatomie (différence entre le diamètre des axones moteurs et des afférences sensorielles) recruteront initialement, même à de faibles intensités de stimulation, les axones moteurs. Par conséquent, ces travaux de thèse pourraient être approfondi en combinant ces nouveaux protocoles de stimulation délivrés au niveau du nerf à d'autres techniques permettant l'activation importante des afférences sensorielles, tels que les étirements du muscle. En effet, cette sollicitation permet d'activer les afférences sensorielles de façon différente de la stimulation nerveuse, et la combinaison de ces techniques permettraient ainsi de maximiser le retour afférent.

Ce qu'il faut retenir de cette thèse :

D'un point de vue méthodologique :

- Une méthode de calcul de l'extra force prenant en compte tous les profils de force a été mise au point durant ce travail de thèse.
- Une méthode originale qui permet de s'affranchir des éventuelles modulations du H_{TEST} lors des modulations de l'inhibition présynaptique a été proposée.

D'un point de vue neuromusculaire :

- Pour un impact équivalent sur la CMV, les basses fréquences de stimulation limitent la diminution de force au cours d'une session d'électrostimulation comparativement aux hautes fréquences.
- Un entraînement en électrostimulation délivré au niveau du nerf à haute et basse fréquence et à faible intensité induit des gains de force significatifs qui s'accompagnent d'adaptations nerveuses dont l'origine dépend de la fréquence de stimulation.
- Le recrutement indirect des UM est un facteur prépondérant pour le développement de l'extra force.

L'ensemble de ces résultats souligne l'importance du retour afférent aux adaptations neuromusculaires induites après une application aiguë et chronique de l'électrostimulation.

VII. BIBLIOGRAPHIE

A

- Adam A, De Luca CJ.** Firing rates of motor units in human vastus lateralis muscle during fatiguing isometric contractions. *J Appl Physiol* 99: 268–280, 2005.
- Adams GR, Harris RT, Woodard D, Dudley GA.** Mapping of electrical muscle stimulation using MRI. *J Appl Physiol* 74: 532–537, 1993.
- Allen DG, Westerblad H.** Role of phosphate and calcium stores in muscle fatigue. *J Physiol* 536: 657–665, 2001.
- Allen GM, Gandevia SC, McKenzie DK.** Reliability of measurements of muscle strength and voluntary activation using twitch interpolation. *Muscle Nerve* 18: 593–600, 1995.
- Allen GM, McKenzie DK, Gandevia SC.** Twitch interpolation of the elbow flexor muscles at high forces. *Muscle Nerve Off J Am Assoc Electrodiagn Med* 21: 318–328, 1998.
- Allman BL, Rice CL.** An age-related shift in the force-frequency relationship affects quadriceps fatigability in old adults. *J Appl Physiol* 96: 1026–1032, 2004.
- Allum JH, Mauritz KH.** Compensation for intrinsic muscle stiffness by short-latency reflexes in human triceps surae muscles. *J Neurophysiol* 52: 797–818, 1984.
- Alon G, Allin J, Inbar G.** Optimization of pulse duration and pulse charge during transcutaneous electrical nerve stimulation. *Aust J Physiother* 29: 195–201, 1983.
- Aymard C, Katz R, Lafitte C, Lo E, Pénicaud A, Pradat-Diehl P, Raoul S.** Presynaptic inhibition and homosynaptic depression A comparison between lower and upper limbs in normal human subjects and patients with hemiplegia. *Brain* 123: 1688–1702, 2000.

B

- Baldwin ERL, Klakowicz PM, Collins DF.** Wide-pulse-width, high-frequency neuromuscular stimulation: implications for functional electrical stimulation. *J Appl Physiol* 101: 228–240, 2006.
- Barker AT, Jalinous R, Freeston IL.** Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 325: 1106–1107, 1985.
- Bawa P, Murnaghan C.** Motor unit rotation in a variety of human muscles. *J Neurophysiol* 102: 2265–2272, 2009.
- Bawa P, Pang MY, Olesen KA, Calancie B.** Rotation of motoneurons during prolonged isometric contractions in humans. *J Neurophysiol* 96: 1135–1140, 2006.

Bax L, Staes F, Verhagen A. Does neuromuscular electrical stimulation strengthen the quadriceps femoris? *Sport Med* 35: 191–212, 2005.

Belanger AY, McComas AJ. Extent of motor unit activation during effort. *J Appl Physiol* 51: 1131–1135, 1981.

Bennett DJ, Hultborn H, Fedirchuk B, Gorassini M. Synaptic Activation of Plateaus in Hindlimb Motoneurons of Decerebrate Cats. *J Neurophysiol* 80:2023–2037, 2023–2037, 1998.

Bergmans J, Michaux J. Hyperpolarization evoked in single human nerve fibres by rhythmically repeated tetanizations. *Arch Int Physiol Biochim* 78: 569–570, 1970.

Bergquist AJ, Clair JM, Collins DF. Motor unit recruitment when neuromuscular electrical stimulation is applied over a nerve trunk compared with a muscle belly: triceps surae. *J Appl Physiol* 110: 627–637, 2011a.

Bergquist AJ, Clair JM, Lagerquist O, Mang CS, Okuma Y, Collins DF. Neuromuscular electrical stimulation: Implications of the electrically evoked sensory volley. *Eur J Appl Physiol* 111: 2409–2426, 2011b.

Bergquist AJ, Wiest MJ, Collins DF. Motor unit recruitment when neuromuscular electrical stimulation is applied over a nerve trunk compared with a muscle belly: quadriceps femoris. *J Appl Physiol* 113: 78–89, 2012.

Bickel CS, Gregory CM, Dean JC. Motor unit recruitment during neuromuscular electrical stimulation: A critical appraisal. *Eur J Appl Physiol* 111: 2399–2407, 2011.

Bigland-Ritchie B, Cafarelli E, Vollestad NK. Fatigue of submaximal static contractions. *Acta Physiol Scand Suppl* 556: 137–148, 1986.

Bigland-Ritchie B, Johansson R, Lippold OC, Woods JJ. Contractile speed and EMG changes during fatigue of sustained maximal voluntary contractions. *J Neurophysiol* 50: 313–324, 1983.

Bigland-Ritchie B, Jones DA, Woods JJ. Excitation frequency and muscle fatigue: electrical responses during human voluntary and stimulated contractions. *Exp Neurol* 64: 414–427, 1979.

Bigland-Ritchie BR, Furbush FH, Gandevia SC, Thomas CK. Voluntary discharge frequencies of human motoneurons at different muscle lengths. *Muscle Nerve* 15: 130–137, 1992.

Bigland Ritchie B. EMG/Force relations and fatigue of human voluntary contractions. 1981.

Binder-Macleod SA, Halden EE, Jungles KA. Effects of stimulation intensity on the physiological responses of human motor units. *Med Sci Sports Exerc* 27: 556–565, 1995.

Binder-Macleod SA, Scott WB. Comparison of fatigue produced by various electrical stimulation trains. *Acta Physiol Scand* 172: 195–203, 2001.

- Binder-Macleod SA, Snyder-Mackler L.** Muscle fatigue: clinical implications for fatigue assessment and neuromuscular electrical stimulation. *Phys Ther* 73: 902–910, 1993.
- Bochkezanian V, Newton RU, Trajano GS, Vieira A, Pulverenti TS, Blazevich AJ.** Effect of tendon vibration during wide-pulse neuromuscular electrical stimulation (NMES) on the decline and recovery of muscle force. *BMC Neurol* 17: 0–14, 2017.
- Boerio D, Jubeau M, Zory R, Maffiuletti NA.** Central and peripheral fatigue after electrostimulation-induced resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 37: 973–978, 2005.
- Bostock H, Bergmans J.** Post-tetanic excitability changes and ectopic discharges in a human motor axon. *Brain* 117: 913–928, 1994.
- Bostock H, Cikurel K, Burke D.** Threshold tracking techniques in the study of human peripheral nerve. *Muscle and Nerve* 21: 137–158, 1998.
- Bowman BR, Baker LL.** Effects of waveform parameters on comfort during transcutaneous neuromuscular electrical stimulation. *Ann Biomed Eng* 13: 59–74, 1985.
- Brasil-Neto JP, Cammarota A, Valls-Solé J, Pascual-Leone A, Hallett M, Cohen LG.** Role of intracortical mechanisms in the late part of the silent period to transcranial stimulation of the human motor cortex. *Acta Neurol Scand* 92: 383–386, 1995.
- Buchthal F, Schmalbruch H.** Contraction times of twitches evoked by H-reflexes. *Acta Physiol Scand* 80: 378–382, 1970.
- Burke D, Adams RW, Skuse NF.** The effects of voluntary contraction on the H reflex of human limb muscles. *Brain* 112: 417–433, 1989.

C

- Collins DF.** Central contributions to contractions evoked by tetanic neuromuscular electrical stimulation. *Exerc Sport Sci Rev* 35: 102–109, 2007.
- Collins DF, Burke D, Gandevia SC.** Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. *J Neurosci* 21: 4059–65, 2001.
- Collins DF, Burke D, Gandevia SC.** Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. *J Physiol* 538: 289–301, 2002.
- Colson SS, Martin A, Van Hoecke J.** Effects of electromyostimulation versus voluntary isometric training on elbow flexor muscle strength. *J Electromyogr Kinesiol* 19: 311–319, 2009.
- Connelly DM, Rice CL, Roos MR, Vandervoort AA.** Motor unit firing rates and contractile properties in tibialis anterior of young and old men. *J Appl Physiol* 87: 843–852, 1999.

Crone C, Hultborn H, Kiehn O, Mazieres L, Wigström H. Maintained changes in motoneuronal excitability by short-lasting synaptic inputs in the decerebrate cat. *J Physiol* 405: 321–343, 1988.

Crone C, Hultborn H, Mazieres L, Morin C, Nielsen J, Pierrot- Deseilligny E. Sensitivity of monosynaptic test reflexes to facilitation and inhibition as a function of the test reflex size: a study in man and the cat. 1990.

Crone C, Nielsen J. Methodological implications of the post activation depression of the soleus H-reflex in man. *Exp brain Res* 78: 28–32, 1989.

Currier DP, Mann R. Muscular strength development by electrical stimulation in healthy individuals. *Phys Ther* 63: 915–921, 1983.

Curtis DR, Eccles JC. Synaptic action during and after repetitive stimulation. *J Physiol* 150: 374–398, 1960.

D

Dalton BH, Harwood B, Davidson AW, Rice CL. Triceps surae contractile properties and firing rates in the soleus of young and old men. *J Appl Physiol* 107: 1781–1788, 2009.

Dean J, Yates L, Collins DF. Turning on the Central Contributions to Contractions Evoked by Neuromuscular Electrical Stimulation. *J Appl Physiol* 9: 102–109, 2007.

De Luca CJ. The use of surface electromyography in biomechanics. *J Appl Biomech* 13: 135–163, 1997.

Doix ACM, Matkowski B, Martin A, Roeleveld K, Colson SS. Effect of neuromuscular electrical stimulation intensity over the tibial nerve trunk on triceps surae muscle fatigue. *Eur J Appl Physiol* 114: 317–329, 2014.

Duchateau J, Hainaut K. Training effects of sub-maximal electrostimulation in a human muscle. *Med Sci Sports Exerc* 20: 99–104, 1988.

Duclay J, Pasquet B, Martin A, Duchateau J. Specific modulation of corticospinal and spinal excitabilities during maximal voluntary isometric, shortening and lengthening contractions in synergist muscles. *J Physiol* 589: 2901–2916, 2011.

E

Eccles JC, Eccles RM, Lundberg A. The action potentials of the alpha motoneurons supplying fast and slow muscles. *J Physiol* 142: 275–91, 1958.

Eccles JC, Schmidt RF, Willis WD. Depolarization of the central terminals of cutaneous afferent fibers. *J Neurophysiol* 26: 646–661, 1963.

Edwards RH. Human muscle function and fatigue. Ciba Foundation symposium 82:1-18, 1981.

Elliott P, Wallis DI. Serotonin and norepinephrine as mediators of altered excitability in neonatal rat motoneurons studied in vitro. *Neuroscience* 47: 533–544, 1992.

Enoka RM. Activation order of motor axons in electrically evoked contractions. *Muscle Nerve* 25: 763–764, 2002.

Enoka RM. *Neuromechanics of human movement*. Human kinetics, 2008.

Erlanger J, Gasser HS. Electrical signs of nervous activity. *Univ Pennsylvania Press Philadelphia*, 1937.

F

Farina D, Holobar A, Merletti R, Enoka RM. Decoding the neural drive to muscles from the surface electromyogram. *Clin Neurophysiol* 121: 1616–1623, 2010.

Farina D, Merletti R, Enoka RM. The extraction of neural strategies from the surface EMG. *J Appl Physiol* 96: 1486–1495, 2004.

Ferguson JP, Blackley MW, Knight RD, Sutlive TG, Underwood FB, Greathouse DG. Effects of varying electrode site placements on the torque output of an electrically stimulated involuntary quadriceps femoris muscle contraction. *J Orthop Sport Phys Ther* 11: 24–29, 1989.

Fitts RH. Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol Rev* 74: 49–94, 1994.

Forget R, Pantieri R, Pierrot-Deseilligny E, Shindo M, Tanaka R. Facilitation of quadriceps motoneurons by group I afferents from pretibial flexors in man. 1. Possible interneuronal pathway. 1989.

Frigon A, Thompson CK, Johnson MD, Manuel M, Hornby TG, Heckman CJ. Extra forces evoked during electrical stimulation of the muscle or its nerve are generated and modulated by a length-dependent intrinsic property of muscle in humans and cats. *J Neurosci* 31: 5579–5588, 2011.

Fuglevand AJ, Zackowski KM, Huey KA, Enoka RM. Impairment of neuromuscular propagation during human fatiguing contractions at submaximal forces. *J Physiol* 460: 549–572, 1993.

G

Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev* 81: 1725–1789, 2001.

Gondin J. Soleus- and Gastrocnemii-Evoked V-Wave Responses Increase After Neuromuscular Electrical Stimulation Training. *J Neurophysiol* 95: 3328–3335, 2006.

Gondin J, Guette M, Ballay Y, Martin A. Electromyostimulation training effects on neural drive and muscle architecture. *Med Sci Sports Exerc* 37: 1291–1299, 2005.

Gorassini M, Yang JF, Siu M, Bennett DJ. Intrinsic activation of human motoneurons: reduction of motor unit recruitment thresholds by repeated contractions. *J Neurophysiol* 87: 1859–1866, 2002.

Gorgey A, Black C, Elder C, Dudley G. Effects of Electrical Stimulation Parameters on Fatigue in Skeletal Muscle. *J Orthop Sports Phys Ther* 39: 684–692, 2009.

Gorgey AS, Mahoney E, Kendall T, Dudley GA. Effects of neuromuscular electrical stimulation parameters on specific tension. *Eur J Appl Physiol* 97: 737–744, 2006.

Graham MT, Rice CL, Dalton BH. Motor unit firing rates of the gastrocnemii during maximal brief steady-state contractions in humans. *J Electromyogr Kinesiol* 26: 82–87, 2016.

Gregory CM, Bickel CS. Recruitment patterns in human skeletal muscle during electrical stimulation. *Phys Ther* 85: 358–364, 2005.

Gregory CM, Dixon W, Bickel CS. Impact of varying pulse frequency and duration on muscle torque production and fatigue. *Muscle and Nerve* 35: 504–509, 2007.

Grill WM, Mortimer JT. Stimulus waveforms for selective neural stimulation. *IEEE Eng Med Biol Mag* 14: 375–385, 1995.

Groppa S, Oliviero A, Eisen A, Quartarone A, Cohen LG, Mall V, Kaelin-Lang A, Mima T, Rossi S, Thickbroom GW. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol* 123: 858–882, 2012.

Grosprêtre S, Lebon F, Papaxanthis C, Martin A. Spinal plasticity with motor imagery practice. *J Physiol* 597: 921–934, 2019.

Grosprêtre S, Martin A. H reflex and spinal excitability: methodological considerations. *J*

Neurophysiol 107: 1649–1654, 2012.

H

Hainaut K, Duchateau J. Neuromuscular electrical stimulation and voluntary exercise. *Sport Med* 14: 100–113, 1992.

Hamada T, Hayashi T, Kimura T, Nakao K, Moritani T. Electrical stimulation of human lower extremities enhances energy consumption, carbohydrate oxidation, and whole body glucose uptake. *J Appl Physiol* 96: 911–916, 2004.

Harvey PJ, Li X, Li Y, Bennett DJ. Endogenous monoamine receptor activation is essential for enabling persistent sodium currents and repetitive firing in rat spinal motoneurons. *J Neurophysiol* 96: 1171–1186, 2006.

Heckman CJ, Enoka RM. Motor Unit. *Compr Physiol* 2: 2629–2682, 2012.

Heckman CJ, Gorassini MA, Bennett DJ. Persistent inward currents in motoneuron dendrites: Implications for motor output. *Muscle and Nerve* 31: 135–156, 2005.

Heckman CJ, Johnson M, Mottram C, Schuster J. Persistent inward currents in spinal motoneurons and their influence on human motoneuron firing patterns. *Neuroscientist* 14: 264–275, 2008.

Henneman E, Somjen G, Carpenter DO. Functional Significance of Cell Size in Spinal Motoneurons. *J Neurophysiol* 28: 560–580, 1965.

Herrero JA, Izquierdo M, Maffiuletti NA, García-López J. Electromyostimulation and plyometric training effects on jumping and sprint time. *Int J Sports Med* 27: 533–539, 2006.

Hortobágyi T, Scott K, Lambert J, Hamilton G, Tracy J. Cross-education of muscle strength is greater with stimulated than voluntary contractions. *Motor Control* 3: 205–219, 1999.

Hounsgaard J, Hultborn H, Jespersen B, Kiehn O. Bistability of alpha-motoneurons in the decerebrate cat and in the acute spinal cat after intravenous 5-hydroxytryptophan. *J Physiol* 405: 345–367, 1988.

Hsiao C-F, Negro CA Del, Trueblood PR, Chandler SH. Ionic basis for serotonin-induced bistable membrane properties in guinea pig trigeminal motoneurons. *J Neurophysiol* 79: 2847–2856, 1998.

Hsiao CF, Trueblood PR, Levine M, Chandler SH. Multiple effects of serotonin on membrane properties of trigeminal motoneurons in vitro. *J Neurophysiol* 77: 2910–2924, 1997.

Hultborn H, Illert M, Nielsen J, Paul A, Ballegaard M, Wiese H. On the mechanism of the

post-activation depression of the H-reflex in human subjects. *Exp brain Res* 108: 450–462, 1996.

Hultborn H, Jankowska E, Lindström S. Recurrent inhibition of interneurones monosynaptically activated from group Ia afferents. *J Physiol* 215: 613–636, 1971.

Hultborn H, Meunier S, Morin C, Pierrot-Deseilligny E. Assessing changes in presynaptic inhibition of Ia fibres: a study in man and the cat. 729–756, 1987.

Hultborn H, Nielsen JB. From Ia Afferents by Their Preceding Activity—a “Postactivation Depression.” *Presynaptic Inhib neural Control* 178, 1998.

Hultman E, Sjöholm H, Jäderholm-Ek I, Krynicki J. Evaluation of methods for electrical stimulation of human skeletal muscle in situ. *Pflugers Arch* 398: 139–141, 1983.

Hunter SK, Duchateau J, Enoka RM. Muscle fatigue and the mechanisms of task failure. *Exerc Sport Sci Rev* 32: 44–49, 2004.

I

Inoue T, Itoh S, Kobayashi M, Kang Y, Matsuo R, Wakisaka S, Morimoto T. Serotonergic modulation of the hyperpolarizing spike afterpotential in rat jaw-closing motoneurons by PKA and PKC. *J Neurophysiol* 82: 626–637, 1999.

J

Jaeger R, Yarkony G, Smith RM. Standing the spinal cord injured patient by electrical stimulation: refinement of a protocol for clinical use. *IEEE Trans Biomed Eng* 36: 720–728, 1989.

Johannsson J, Duchateau J, Baudry S. Presynaptic inhibition of soleus Ia afferents does not vary with center of pressure displacements during upright standing. *Neuroscience* 298: 63–73, 2015.

K

Katz R, Penicaud A, Rossi A. Reciprocal Ia inhibition between elbow flexors and extensors in the human. *J Physiol* 437: 269–286, 1991.

- Kelly MJ, Lieber RL.** Human quadriceps muscle fatigue at three frequencies and two duty cycles using electrical stimulation. *Transact Am Orthop Soc* 37: 41, 1991.
- Kent-Braun JA.** Central and peripheral contributions to muscle fatigue in humans during sustained maximal effort. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 80: 57–63, 1999.
- Kesar T, Binder-Macleod S.** Effect of frequency and pulse duration on human muscle fatigue during repetitive electrical stimulation. *Exp Physiol* 91: 967–976, 2006.
- Kesar TM, Stinear JW, Wolf SL.** The use of transcranial magnetic stimulation to evaluate cortical excitability of lower limb musculature: Challenges and opportunities. *Restor Neurol Neurosci* 36: 333–348, 2018.
- Kiernan M, C. T, Mogyoros I, Burke D.** Differences in the recovery of excitability in sensory and motor axons of human median nerve. *Brain* 119: 1099–1105, 1996.
- Kiernan MC, Lin CS-Y, Burke D.** Differences in activity-dependent hyperpolarization in human sensory and motor axons. *J Physiol* 558: 341–349, 2004.
- Klakowicz PM, Baldwin ERL, Collins DF.** Contribution of M-Waves and H-Reflexes to Contractions Evoked by Tetanic Nerve Stimulation in Humans. *J Neurophysiol* 96: 1293–1302, 2006.
- Kloth LC, Cummings JP.** Electrotherapeutic terminology in physical therapy. *Alexandria, VA Am Phys Ther Assoc* , 1991.
- Knight CA, Kamen G.** Superficial motor units are larger than deeper motor units in human vastus lateralis muscle. *Muscle and Nerve* 31: 475–480, 2005.
- Kots JM.** Trenirovka myseckoj sily metodon elektrostimulaciji Soobstenie. *Teor I Prakt Fiz Kult* 3: 64–67, 1971.
- Kuno M.** Mechanism of facilitation and depression of the excitatory synaptic potential in spinal motoneurons. *J Physiol* 175: 100–112, 1964.

L

- Lagerquist O, Walsh LD, Blouin J-S, Collins DF, Gandevia SC.** Effect of a peripheral nerve block on torque produced by repetitive electrical stimulation. *J Appl Physiol* 107: 161–167, 2009.
- Lake DA.** Neuromuscular electrical stimulation. An overview and its application in the treatment of sports injuries. *Sports Med* 13: 320–336, 1992.
- Lamy JC, Wargon I, Baret M, Ben Smail D, Milani P, Raoul S, Pénicaud A, Katz R.** Post-

activation depression in various group I spinal pathways in humans. *Exp Brain Res* 166: 248–262, 2005.

Lee RH. Influence of Active Dendritic Currents on Input-Output Processing in Spinal Motoneurons In Vivo. *J Neurophysiol* 89: 27–39, 2002.

Lee RH, Heckman CJ. Influence of voltage-sensitive dendritic conductances on bistable firing and effective synaptic current in cat spinal motoneurons in vivo. *J Neurophysiol* 76: 2107–2110, 1996.

Lee RH, Heckman CJ. Bistability in spinal motoneurons in vivo: Systematic variations in rhythmic firing patterns. *J Neurophysiol* 80: 572–582, 1998.

Lieber RL, Kelly MJ. Torque history of electrically stimulated human quadriceps: implications for stimulation therapy. *J Orthop Res* 11: 131–141, 1993.

Lou JWH, Bergquist AJ, Aldayel A, Czitron J, Collins DF. Interleaved neuromuscular electrical stimulation reduces muscle fatigue. *Muscle and Nerve* 55: 179–189, 2017.

M

Maffiuletti NA. Physiological and methodological considerations for the use of neuromuscular electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol* 110: 223–234, 2010.

Maffiuletti NA, Pensini M, Martin A. Activation of human plantar flexor muscles increases after electromyostimulation training. *J Appl Physiol* 92: 1383–92, 2002.

Magalhães FH, de Toledo DR, Kohn AF. Plantar flexion force induced by amplitude-modulated tendon vibration and associated soleus V/F-waves as an evidence of a centrally-mediated mechanism contributing to extra torque generation in humans. *J Neuroeng Rehabil* 10: 32, 2013.

Magalhes FH, Kohn AF. Vibration-induced extra torque during electrically-evoked contractions of the human calf muscles. *J Neuroeng Rehabil* 7: 1–16, 2010.

Martin A, Grosprêtre S, Vilmen C, Guye M, Mattei J-P, LE Fur Y, Bendahan D, Gondin J. The Etiology of Muscle Fatigue Differs between Two Electrical Stimulation Protocols. *Med Sci Sports Exerc* 48: 1474–1484, 2016.

Martin L, Cometti G, Pousson M, Morlon B. Effect of electrical stimulation training on the contractile characteristics of the triceps surae muscle. *Eur J Appl Physiol* 67: 457–461, 1993.

Matkowski B, Lepers R, Martin A. Torque decrease during submaximal evoked contractions of the quadriceps muscle is linked not only to muscle fatigue. *J Appl Physiol* 118: 1136–1144,

2015.

Matsunaga T, Shimada Y, Sato K. Muscle fatigue from intermittent stimulation with low and high frequency electrical pulses. *Arch Phys Med Rehabil* 80: 48–53, 1999.

McNeil CJ, Butler JE, Taylor JL, Gandevia SC. Testing the excitability of human motoneurons. *Front Hum Neurosci* 7: 1–9, 2013.

Merton PA. Voluntary strength and fatigue. *J Physiol* 123: 553–564, 1954.

Merton PA, Morton HB. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature* 285: 227, 1980.

Miller C, Thépaut-Mathieu C. Strength training by electrostimulation conditions for efficacy. *Int J Sports Med* 14: 20–28, 1993.

Millet GY, Martin V, Martin A, Verges S. Electrical stimulation for testing neuromuscular function: from sport to pathology. *Eur J Appl Physiol* 111: 2489–2500, 2011.

Mizuno Y, Tanaka R, Yanagisawa N. Reciprocal group I inhibition on triceps surae motoneurons in man. *J Neurophysiol* 34: 1010–1017, 1971.

Moolenaar GM, Holloway JA, Trough CO. Responses of caudal raphe neurons to peripheral somatic stimulation. *Exp Neurol* 53: 304–313, 1976.

Moritani T, Muro M. Motor unit activity and surface electromyogram power spectrum during increasing force of contraction. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 56: 260–265, 1987.

Moritani T, Muro M, Kijima A. Electromechanical changes during electrically induced and maximal voluntary contractions: electrophysiologic responses of different muscle fiber types during stimulated contractions. *Exp Neurol* 88: 471–483, 1985.

Mortimer JT. Motor prostheses. In *Handbook of Physiology, Section 1: The Nervous System. Motor Control Part I, Vol. II*, American Physiological Society, 1981.

N

Nardone A, Schieppati M. Shift of activity from slow to fast muscle during voluntary lengthening contractions of the triceps surae muscles in humans. *J Physiol* 395: 363–381, 1988.

Neyroud D, Dodd D, Gondin J, Maffiuletti NA, Kayser B, Place N. Wide-pulse-high-frequency neuromuscular stimulation of triceps surae induces greater muscle fatigue compared with conventional stimulation. *J Appl Physiol* 116: 1281–1289, 2014.

Neyroud D, Gonzalez M, Mueller S, Agostino D, Grosprêtre S, Maffiuletti NA, Kayser B, Place N. Neuromuscular adaptations to wide-pulse high-frequency neuromuscular electrical

stimulation training. *Eur J Appl Physiol* 119: 1105–1116, 2019.

Neyroud D, Grosprêtre S, Gondin J, Kayser B, Place N. Test-retest reliability of wide-pulse high-frequency neuromuscular electrical stimulation evoked force. *Muscle Nerve* 1–8, 2017.

Nguyen R, Masani K, Micera S, Morari M, Popovic MR. Spatially Distributed Sequential Stimulation Reduces Fatigue in Paralyzed Triceps Surae Muscles: A Case Study. *Artif Organs* 35: 1174–1180, 2011.

O

Oliveira PFA, Durigan JLQ, Modesto KAG, Bottaro M, Babault N. Neuromuscular fatigue after low- and medium-frequency electrical stimulation in healthy adults. *Muscle and Nerve* 58: 293–299, 2018.

Owens J, Malone T. Treatment parameters of high frequency electrical stimulation as established on the Electro-Stim 180. *J Orthop Sport Phys Ther* 4: 162–168, 1983.

P

Papaiordanidou M, Guiraud D, Varray A. Kinetics of neuromuscular changes during low-frequency electrical stimulation. *Muscle and Nerve* 41: 54–62, 2010.

Papaiordanidou M, Stevenot JD, Mustacchi V, Vanoncini M, Martin A. Electrically induced torque decrease reflects more than muscle fatigue. *Muscle and Nerve* 50: 604–607, 2014.

Penfield W, Jasper H. Epilepsy and the functional anatomy of the human brain. 1954.

Pierrot-Deseilligny E, Burke D. The circuitry of the human spinal cord: its role in motor control and movement disorders. *Brain* , 2005.

Place N, Yamada T, Bruton JD, Westerblad H. Interpolated twitches in fatiguing single mouse muscle fibres: Implications for the assessment of central fatigue. *J Physiol* 586: 2799–2805, 2008.

Poltawski L, Watson T. Bioelectricity and microcurrent therapy for tissue healing—a narrative review. *Phys Ther Rev* 14: 104–114, 2009.

Portmann M. Amélioration de la force musculaire au moyen de la stimulation électrique et application à l'entraînement sportif. 1991.

Prather JF, Powers RK, Cope TC. Amplification and linear summation of synaptic effects on motoneuron firing rate. *J Neurophysiol* 85: 43–53, 2001.

R

Regina Dias Da Silva S, Neyroud D, Maffiuletti NA, Gondin J, Place N. Twitch potentiation induced by two different modalities of neuromuscular electrical stimulation: Implications for motor unit recruitment. *Muscle and Nerve* 51: 412–418, 2015.

Renshaw B. Influence of discharge of motoneurons upon excitation of neighboring motoneurons. *J Neurophysiol* 4: 167–183, 1941.

Roos MR, Rice CL, Connelly DM, Vandervoort AA. Quadriceps muscle strength, contractile properties, and motor unit firing rates in young and old men. *Muscle Nerve Off J Am Assoc Electrodiagn Med* 22: 1094–1103, 1999.

Roques CF. Pratique de l'électrothérapie. *Electrophysiothérapie Prat appliqué à la médecine Phys à la masso-kinésithérapie* 14, 1997.

Rudomin P, Schmidt RF. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 129: 1–37, 1999.

Russ D, Elliott M, Vandenborne K, Walter G, Binder-Macleod S. Metabolic costs of isometric force generation and maintenance of human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282: E448–457, 2002.

Ruther C, Golden C, Harris R, Dudley G. Hypertrophy, Resistance Training, and the Nature of Skeletal Muscle Activation. *J. Strength and Cond.: Res.* 9(3):155–159, 1995.

S

Sale DG. Neural adaptation to resistance training. *Med Sci Sports Exerc* 20: S135–45, 1988.

Schieppati M. The Hoffmann reflex: A means of assessing spinal reflex excitability and its descending control in man. *Prog Neurobiol* 28: 345–376, 1987.

Scott WB, Lee SCK, Johnston TE, Binkley J, Binder-Macleod SA. Effect of electrical stimulation pattern on the force responses of paralyzed human quadriceps muscles. *Muscle and Nerve* 35: 471–478, 2007.

Selkowitz DM. Improvement in isometric strength of the quadriceps femoris muscle after

training with electrical stimulation. *Phys Ther* 65: 186–196, 1985.

Sieck GC, Mantilla CB. Novel method for physiological recruitment of diaphragm motor units after upper cervical spinal cord injury. *J Appl Physiol* 107: 641–642, 2009.

Stevenson, S.W and Dudley G. Dietary creatine supplementation and muscular adaptation to resistive overload. *Med Sci Sports Exerc.* : 33:1304-1310, 2001.

Strojnik V, Komi P V. Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. *J Appl Physiol* 84: 344–350, 1998.

T

Taylor JL, Butler JE, Allen GM, Gandevia SC. Changes in motor cortical excitability during human muscle fatigue. *J Physiol* 490: 519–528, 1996.

Thépaut-Mathieu C, van Hoecke J, Maton B. Myoelectrical and mechanical changes linked to length specificity during isometric training. *J Appl Physiol* 64: 1500–1505, 1988.

Theurel J, Lepers R, Pardon L, Maffiuletti NA. Differences in cardiorespiratory and neuromuscular responses between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris muscle. *Respir Physiol Neurobiol* 157: 341–347, 2007.

Tortora GJ, Derrickson B. *Principles of Anatomy and Physiology: Organization, support and movement, and control systems of the human body; vol. 2: maintenance and continuity of the human body.* John Wiley, 2009.

U

Underwood FB, Kremser GL, Finstuen K, Greathouse DG. Increasing involuntary torque production by using TENS. *J Orthop Sport Phys Ther* 12: 101–104, 1990.

V

Vagg R, Mogyoros I, Kiernan MC, Burke D. Activity-dependent hyperpolarization of human motor axons produced by natural activity. *J Physiol* 507: 919–925, 1998.

Vanderthommen M, Crielaard JM. Muscle electric stimulation in sports medicine. *Rev Med Liege* 56: 391–395, 2001a.

Vanderthommen M, Crielaard JM. [Muscle electric stimulation in sports medicine]. *Rev Med Liege* 56: 391–395, 2001b.

Vanderthommen M, Duteil S, Wary C, Raynaud JS, Leroy-Willig A, Crielaard JM, Carlier PG. A comparison of voluntary and electrically induced contractions by interleaved ¹H- and ³¹P-NMRS in humans. *J Appl Physiol* 94: 1012–1024, 2003.

Vanderthommen M, Gilles R, Carlier P, Ciancabilla F, Zahlan O, Sluse F, Crielaard J-M. Human muscle energetics during voluntary and electrically induced isometric contractions as measured by ³¹P NMR spectroscopy. *Int J Sports Med* 20: 279–283, 1999.

Veale JL, Mark RF, Rees S. Differential sensitivity of motor and sensory fibres in human ulnar nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75–86, 1973.

W

Wall PD, Sweet WH. Temporary abolition of pain in man. *Science* 155: 108–109, 1967.

Ward AR, Shkuratova N. Russian electrical stimulation: the early experiments. *Phys Ther* 82: 1019–1030, 2002.

Wegrzyk J, Fouré A, Le Fur Y, Maffiuletti NA, Vilmen C, Guye M, Mattei JP, Place N, Bendahan D, Gondin J. Responders to wide-pulse, high-frequency neuromuscular electrical stimulation show reduced metabolic demand: A ³¹P-MRS study in humans. *PLoS One* 10: 1–16, 2015a.

Wegrzyk J, Fouré A, Vilmen C, Ghattas B, Maffiuletti NA, Mattei JP, Place N, Bendahan D, Gondin J. Extra Forces induced by wide-pulse, high-frequency electrical stimulation: Occurrence, magnitude, variability and underlying mechanisms. *Clin Neurophysiol* 126: 1400–1412, 2015b.

Werhahn KJ, Kunesch E, Noachtar S, Benecke R, Classen J. Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol* 517: 591–597, 1999.

Wiest MJ, Bergquist AJ, Schmidt HL, Jones KE, Collins DF. Interleaved neuromuscular electrical stimulation: Motor unit recruitment overlap. *Muscle and Nerve* 55: 490–499, 2016.

Z

Zehr EP. Considerations for use of the Hoffmann reflex in exercise studies. *Eur J Appl Physiol* 86: 455–468, 2002.

Zory R, Boërio D, Jubeau M, Maffiuletti NA. Central and peripheral fatigue of the knee extensor muscles induced by electromyostimulation. *Int J Sports Med* 26: 847–853, 2005.

VIII. ANNEXES

Annexe 1 : Entraînement par électrostimulation (paramètres de stimulation et gains de force)

Référence	Muscle	Session	Courant (LI - Hz)	Intensité (% MVC)	Gains (% MVC)					
					0	10	20	30	40	50
<i>Eriksson et al 1981</i>	Q	20	0,5 - 50	N/A						
<i>Currier & Mann 1983</i>	Q	15	0,1 - Kots	60						
<i>Laughmann et al 1983</i>	Q	25	N/A - Kots	33						
<i>McMiken et al 1983</i>	Q	10	0,1 - 75	80						
<i>Owens & Malone 1983</i>	Q	10	0,2 - Kots	60						
<i>Boutelle et al 1985</i>	Q	20	0,2 - Kots	N/A						
<i>Fahey et al 1985</i>	Q	18	N/A - 50	N/A						
<i>Selkowitz 1985</i>	Q	12	0,45 - Kots	91						
<i>Nobbs & Rhodes 1986</i>	Q	18	N/A - 60	N/A						
<i>Kubiak et al 1987</i>	Q	15	N/A - N/A	45						
<i>Lai et al 1988</i>	Q	15	0,2 - 50	25 - 50						
<i>Soo et al 1988</i>	Q	10	N/A - Kots	50						
<i>Portman & Monpetit 1991</i>	Q	24	0,4 - Kots	90						
<i>Zhou et al 2002</i>	Q	12	0,25 - 100	65						
<i>Parker et al 2003</i>	Q	12	0,2 - Kots	69						
<i>Gondin et al 2005</i>	Q	32	0,4 - 75	68						
<i>Herrero et al 2006</i>	Q	16	0,4 - 120	N/A						
<i>Davies et al 1985</i>	FDI	40	0,1 - 60	N/A						
<i>Cabric et Appell 1987</i>	TS	21	0,2 - 50	N/A						
<i>Duchateau & Hainaut 1988</i>	AP	18	N/A - 100	60						
<i>Miller & Thépaut Mathieu 1993</i>	BB	15	N/A - Kots	N/A						
<i>Martin et al 1993</i>	TS	12	0,2 - 70	63						
<i>Maffiuletti et al 2002</i>	TS	16	0,4 - 75	60						
<i>Gondin et al 2006</i>	TS	15	0,4 - 75	61						
<i>Colson et al 2009</i>	BB	21	0,24 - 80	65						

Annexe 2 : l'inhibition réciproque

Le mécanisme de l'inhibition réciproque a été introduit pour la première fois par Sherrington en 1897. La loi de Sherrington stipule que lorsqu'un muscle se contracte, son antagoniste se relâche de la même manière, ce qui permet un mouvement fluide. Ainsi, l'amplitude du réflexe H peut être affectée par des boucles spinales mettant en jeu plusieurs muscles, notamment le système agoniste/antagoniste. En effet, lors d'une contraction volontaire, les afférences Ia du muscle agoniste stimulent d'une part l'activité des motoneurones alpha de ces mêmes muscles, mais également un interneurone inhibiteur (Katz et al. 1991) se projetant sur le pool des motoneurones du muscle antagoniste. Cette boucle de régulation négative via les afférences Ia est appelée inhibition réciproque (Figure 27). L'inhibition réciproque limite donc la co-contraction agoniste-antagoniste permettant ainsi la réalisation d'un mouvement.

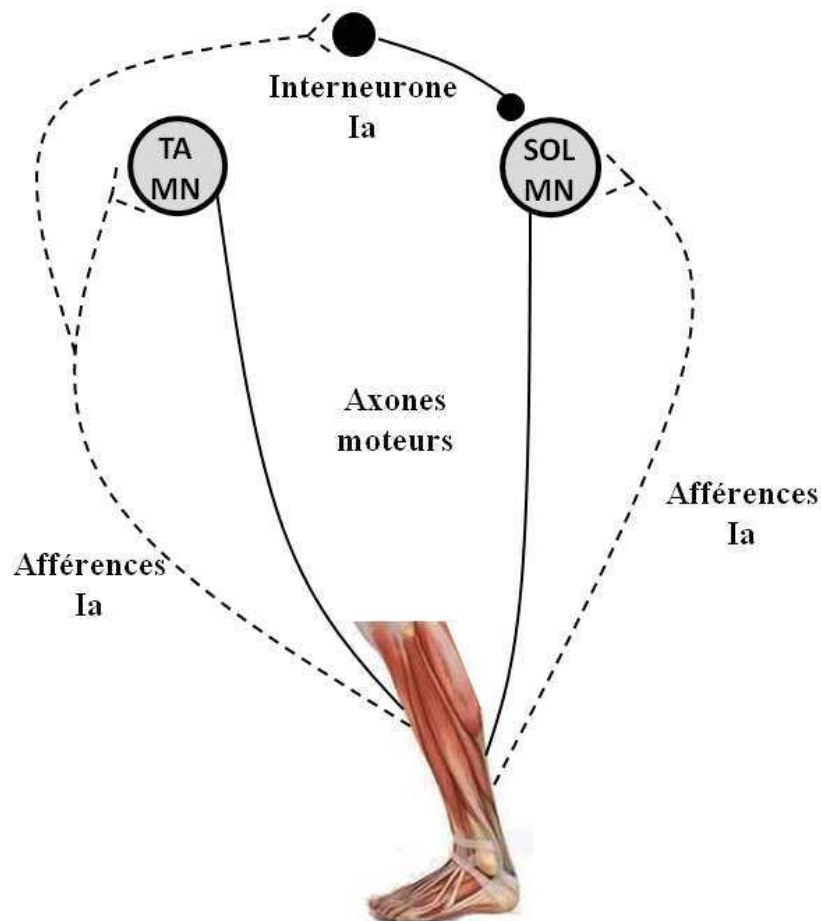


Figure 27. Mécanisme de l'inhibition réciproque. Les afférences du tibial antérieur (TA) activent les motoneurones ainsi qu'un interneurone inhibiteur Ia, qui va inhiber les motoneurones du muscle antagoniste (soléaire, SOL).

Annexe 3 : l'inhibition récurrente

L'inhibition récurrente est activée par la décharge du motoneurone alpha lui-même (Renshaw 1941). En effet, les axones des motoneurones alpha possèdent des branches collatérales excitatrices, qui se projettent sur des interneurons, nommés cellules de Renshaw (Hultborn et al. 1987). La cellule de Renshaw génère ainsi des potentiels inhibiteurs sur le motoneurone vers lequel elle projette ses branches collatérales (Enoka 2002). Ainsi, lorsque le motoneurone décharge en direction des fibres musculaires, il active également cet interneurone, qui à son tour décharge afin d'inhiber le motoneurone lui-même (Figure 28).

Les cellules de Renshaw sont donc capables d'inhiber les voies réflexes par des projections sur le motoneurone lui-même. Elles ont des projections aussi sur les motoneurones des muscles synergistes, sur des interneurons inhibiteurs ou sur d'autres cellules de Renshaw. La voie récurrente est alors une voie de rétroaction négative qui possède de nombreuses projections. Premièrement, une seule cellule de Renshaw inhibe plusieurs motoneurones du même muscle agoniste : c'est ce que l'on nomme l'inhibition récurrente homonyme. Ainsi, l'activation d'un motoneurone entraîne par les cellules de Renshaw une inhibition de plusieurs motoneurones environnants. L'inhibition récurrente hétéronyme se caractérise quant à elle par le fait qu'une cellule de Renshaw connecte également les interneurons de l'inhibition réciproque (Hultborn et al. 1971). Ce dernier mécanisme entraîne alors une "inhibition d'inhibition", soit une facilitation de l'activité de l'antagoniste. Leur efficacité inhibitrice est cependant moindre face aux interneurons de l'inhibition réciproque.

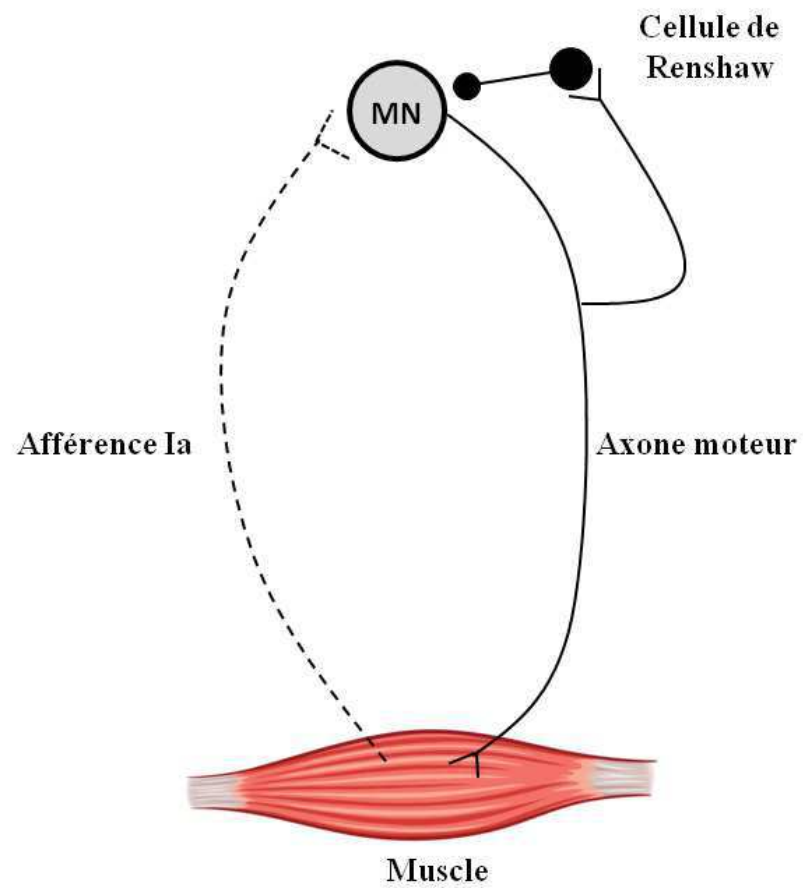


Figure 28. Mécanisme de l'inhibition récurrente. La cellule de Renshaw est activée par une branche collatérale de l'axone du motoneurone, qui inhibe alors le motoneurone.

RESUMÉ :

L'objectif de cette thèse était d'étudier l'impact de protocoles d'électrostimulation favorisant un recrutement indirect des unités motrices (UM) via les afférences sensorielles et induisant le développement d'extra force, sur le système neuromusculaire. Ces protocoles associent une grande largeur d'impulsion, une faible intensité de stimulation, des hautes et basses fréquences et sont appliqués sur le nerf moteur. L'étude des effets de ces protocoles sur la fatigue neuromusculaire lors d'une application aiguë a fait l'objet de la première étude qui a montré que pour un impact équivalent sur la capacité maximale de production de force, les basses fréquences de stimulation limitaient la diminution de force au cours d'une session d'électrostimulation comparativement aux hautes fréquences. L'application de manière chronique de ces protocoles lors d'un entraînement a fait l'objet de la deuxième étude. Les résultats ont montré des gains de force importants malgré les faibles intensités de stimulation et des adaptations nerveuses qui étaient dépendantes de la fréquence de stimulation. Les résultats de ces deux études ont aussi permis de mettre en évidence l'importance du phénomène d'extra force sur les adaptations induites. Ainsi, l'étude de ce dernier phénomène a fait l'objet de la troisième étude. Les résultats ont montré que lorsque le recrutement initial des UM était indirect, l'extra force était présente pour toutes les fréquences de stimulation. De plus, le développement de l'extra force a induit une diminution de l'excitabilité spinale après les basses fréquences de stimulation et une augmentation après les hautes fréquences. La dernière étude de ce travail s'est intéressée aux mécanismes expliquant ces modulations spinales. Les résultats ont montré que le mécanisme de dépression post-activation pourrait expliquer la diminution observée après les basses fréquences, tandis que ce mécanisme serait compensé par la présence de courants entrants persistants, entraînant une augmentation de l'excitabilité des motoneurons après les hautes fréquences de stimulation. L'ensemble de ces résultats souligne l'importance du retour afférent aux adaptations neuromusculaires induites après une application aiguë et chronique de l'électrostimulation.

Mots-clés : électrostimulation – adaptations neuromusculaires – retour afférent – extra force – excitabilité spinale – fatigue neuromusculaire.

ABSTRACT:

The aim of this thesis was to investigate the effects of electrical stimulation protocols favouring an indirect motor units' (MU) recruitment via sensory axons activation and giving rise to extra force development, on the neuromuscular system. These protocols use wide pulse duration, low stimulation intensity, low and high stimulation frequencies and are applied over the motor nerve. The aim of the first study was to examine the effects of these protocols on the extent and origin of neuromuscular fatigue during an acute application. Results showed that for a similar impact on maximal force generating capacity, low stimulation frequencies limit force decreases during the stimulation trains as compared to high stimulation frequencies. The aim of the second study was to investigate the effects of chronic application of these protocols. Results showed important torque gains after the training period despite the low stimulation intensity used, while the induced neural adaptations were frequency-dependent. Results of these two studies also highlighted the importance of the phenomenon of extra torque on induced adaptations. Thus, the aim of the third study was to determine the conditions permitting the occurrence of extra torque, by modulating the frequency and intensity of stimulation. Main results showed that when the initial MU recruitment was mostly indirect, the developed torque was higher than the one expected for the given stimulation parameters, independently of the stimulation frequency, suggesting that the indirect MU recruitment plays a preponderant role in the occurrence of extra torque. Moreover, a frequency-dependent impact on spinal excitability was observed, resulting in a decrease after the low stimulation frequency and an increase after the high frequency. Consequently, the last study investigated the mechanisms responsible for the distinct modulation of spinal excitability. Results showed that the decrease in spinal excitability observed after the low stimulation frequency could be attributed to increased homosynaptic post-activation depression, while this latter mechanism could have been compensated by an enhanced motoneuron excitability as a result of persistent inward currents after the high stimulation frequency. All these results underline the importance of the afferent volley to the induced neuromuscular adaptations after acute and chronic electrical stimulation application.

Key words: electrical stimulation – neuromuscular adaptations – afferent volley – extra torque – spinal excitability – neuromuscular fatigue.